

Gens i càncer: avançant cap a la medicina personalitzada

**Galunisertib + teràpia anti-PD-L1 com a
tractament del càncer uterí**

**Lluís Moreno Balagué
Mariona Vázquez i Mas**

**Curs 2018-2019
Treball de Recerca
Tutoritzat per Roser Roca**

Índex

Índex de figures	iii
Índex de taules	iv
Abstract	1
Indicacions per llegir el treball	3
1 Introducció	4
1.1 Motivació	6
1.2 Hipòtesis i objectiu	6
1.3 Metodologia	7
1.3.1 Bases de dades	8
2 Estat de la qüestió	10
2.1 Què és el càncer?	10
2.2 Què són les vies de senyalització?	11
2.3 Relació entre les vies de senyalització i el càncer	12
2.3.1 Proto-oncogens i supressors tumorals	13
2.4 Principals vies de senyalització utilitzades en el treball	14
2.4.1 Via Wnt/ β -Catenina	14
2.4.1.1 Components de la via Wnt	14
2.4.1.2 Funcionament de la via Wnt	16
2.4.1.3 Alteracions genètiques de la via Wnt i càncer	16
2.4.2 Via TGF β	17
2.4.2.1 Components de la via TGF β	17
2.4.2.2 Funcionament de la via TGF β	19
2.4.2.3 Alteracions genètiques de la via TGF β i càncer	20
2.4.3 Via EGFR	20
2.4.3.1 Components de la via EGFR i funcionament	21
2.4.3.2 Alteracions genètiques de la via EGFR i càncer	23
2.4.4 Via p53	24
2.4.4.1 Components de la via p53	24
2.4.4.2 Funcionament de la via p53	26
2.4.4.3 Activació de la via p53	27
2.4.4.4 Alteracions genètiques de la via p53 i càncer	28
2.4.5 Via IFN γ	28
2.4.5.1 Components de la via IFN γ	29

2.4.5.2	Funcionament de la via IFN γ	30
2.4.5.3	Alteracions genètiques de la via IFN γ i càncer	31
2.5	Medicaments	32
2.5.1	Galunisertib	32
2.5.2	Anti-PD-L1	33
2.6	Tipus de càncers estudiats	34
2.6.1	Càncer colorectal	34
2.6.1.1	Què és?	34
2.6.1.2	Com es tracta el càncer colorectal?	36
2.6.2	Càncer urotelial	37
2.6.2.1	Què és?	37
2.6.2.2	Com es tracta el càncer urotelial?	37
2.6.3	Càncer d'úter	39
2.6.3.1	Què és?	39
2.6.3.2	Com es tracta el càncer d'úter?	39
3	Treball de camp	41
4	Resultats i discussió	44
4.1	Estudi matemàtic de les mutacions AKTP	44
4.2	Estudi matemàtic de les mutacions de l'article de Mariathasan	56
4.3	Anàlisi de les entrevistes	58
5	Comprovació dels resultats	59
5.1	cBioPortal i COSMIC	59
6	Conclusions	62
6.1	Principals conclusions	62
6.2	Dificultats i limitacions	63
6.3	Continuació del treball	63
7	Agraïments	65
	Bibliografia	66

Índex de figures

1.1	Immunohistologia d'un tumor de còlon amb els limfòcits T a la seva perifèria	4
2.1	Diagrama que mostra els gens més importants per alguns càncers, segons l'òrgan que afectin	12
2.2	Components de la via Wnt/ β -catenina	15
2.3	Funcionament de la via Wnt/ β -catenina	16
2.4	Ratis de mutacions a la via Wnt	17
2.5	Percentatge de mutacions en els principals components de la via Wnt . . .	18
2.6	Funcionament de la via de senyalització TGF β	19
2.7	Percentatge de mutacions en els principals components de la via TGF β . .	20
2.8	Activació de la via Ras/MAPK	21
2.9	Regulació del cicle de Ras per l'EGFR	22
2.10	Via de senyalització EGFR	23
2.11	Percentatge de mutacions en els principals components de la via EGFR . . .	24
2.12	Via de senyalització p53	25
2.13	Proteïna p53 i el seu funcionament	26
2.14	Actuació de la p53 quan està mutada	27
2.15	Factors que estimulen l'activació de la p53	27
2.17	Components de la via de senyalització interferó gamma	29
2.18	Model canònic i no canònic de la via de senyalització IFN γ	31
2.19	Percentatge de mutacions en els principals components de la via IFN γ . . .	32
2.20	Imatge bidimensional de Galunisertib	33
2.21	Funcionament d'anti-PD-L1	33
2.22	Imatge anatòmica del còlon	34
2.23	Incidència i freqüència relativa de les 10 localitzacions més freqüents de càncer a Catalunya. Període 2008 – 2012	35
2.24	Mortalitat per càncer anual a Catalunya.	35
2.25	Percentatge de mutacions en el càncer colorectal	36
2.26	Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer de còlon a Catalunya . . .	37
2.27	Imatge anatòmica de la bufeta urinària	37
2.28	Percentatge de mutacions en el càncer de bufeta	38
2.29	Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer de bufeta a Catalunya . .	38
2.30	Imatge anatòmica de l'úter	39
2.31	Percentatge de mutacions en el càncer d'úter	40
2.32	Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer d'úter a Cata https://www.overleaf.com/project/5bf08e6ff138c36ed9d5e3f0lunya	40
4.1	Mutacions APC1+KRAS+TGFB2+TP53	45

4.2	Mutacions APC1+KRAS+TGFB2	46
4.3	Mutacions APC1+TGFB2+TP53	47
4.4	Mutacions APC1+TGFB2	48
4.5	Mutacions APC1+KRAS+TP53	49
4.6	Mutacions APC1+KRAS	50
4.7	Mutacions APC1+TP53	51
4.8	Mutacions TGFB2+TP53	52
4.9	Mutació APC1	53
4.10	Mutació TGFB2	54
4.11	Mutació TP53	55
4.12	Mutacions ACBR1+IFNGR1+TGFB2+TGFB1	57
5.1	Mutació AKTP a CBioPortal	60
5.2	Mutació AKTP a COSMIC	61

Índex de taules

3.1	Nomenclatura internacional dels principals tumors estudiats i les seves abreviatures.	43
5.1	Comparació dels resultats dels creuaments de les diferents mutacions amb les 3 bases de dades	59

ABSTRACT

El passat mes de febrer es van publicar simultàniament a la revista *Nature* dos importants articles [1], [2] que demostren l'efectivitat del tractament amb galunisertib i un agent anti-PD-L1 per tal de tractar els càncers metastàtics de còlon i bufeta respectivament.

Basant-nos en aquests rellevants descobriments, hem volgut trobar un tumor suficientment semblant al dels estudis per proposar aplicar els mateixos dos fàrmacs per al seu tractament.

Segons les mutacions utilitzades pels investigadors en aquests dos estudis, hem comprovat, després d'un exhaustiu anàlisi de la base de dades americana del *National Cancer Institute* [3], quina és la freqüència en què aquestes mutacions es presenten en els càncers més comuns i hem establert una norma matemàtica per definir el concepte de distància segons la seva semblança. Aquests resultats han servit per determinar que, d'entre tots els càncers estudiats, el càncer d'úter és el més similar al de còlon si prenem com a referència les mutacions dels dos estudis.

Per donar una base encara més sòlida als resultats obtinguts, hem utilitzat la mateixa metodologia per comprovar, també, la distància entre els càncers amb els registres de casos de pacients de dues altres bases de dades que són referents a nivell mundial: *COSMIC* [4] i *cBioPortal* [5]. En aquesta anàlisi també ha estat el càncer d'úter el més semblant.

Amb això s'ha proposat la hipòtesi que, si la combinació de galunisertib i anti-PD-L1 serveix per a tractar i inhibir els càncers metastàtics de còlon i bufeta, també podria utilitzar-se per a tractar el càncer d'úter.

Last February, two articles were published simultaneously in the scientific magazine Nature [1], [2] which prove the effectivity of the combination of galunisertib and an anti-PD-L1 drug agent as a treatment for colon and bladder metastatic cancers respectively.

Taking into account these relevant discoveries, we wanted to find a tumour similar enough to the ones of the studies to apply the same two drugs for its treatment.

Using the same mutations as the ones used by investigators in both studies, we have found out after an exhaustive analysis of the National Cancer Institute American database [3], the frequency in which these mutations appear in most common cancers. Also, we have established a mathematical norm to define the concept of distance according to their similarity. The results have helped us ascertain that within the overall of studied cancers, the uterine cancer is the most similar to the colon one, taking as a reference the mutations in both studies.

In order to provide reliability to the obtained results, we have used the same methodology to check the distance between cancers with patient cases registers of two different word wide referent databases: COSMIC [4] and cBioPortal [5]. The results have shown that uterine cancer is the most similar cancer to colon cancer as well.

With this information, we propose the hypothesis that if the combination of galunisertib and anti-PD-L1 is useful to treat and inhibit colon and bladder metastatic cancers, it could be used as well to as a treatment for uterine cancer.

El pasado mes de febrero se publicaron simultáneamente en la revista *Nature* dos importantes artículos [1], [2] que demuestran la efectividad del tratamiento con galunisertib y un agente anti-PD-L1 con el fin de tratar los cánceres metastáticos de colon y vejiga respectivamente.

Basándonos en estos relevantes descubrimientos, hemos querido encontrar un tumor suficientemente parecido al de los estudios para proponer aplicar los mismos dos fármacos para su tratamiento.

Según las mutaciones utilizadas por los investigadores en estos dos estudios, hemos comprobado, después de un exhaustivo análisis de la base de datos americana del *National Cancer Institute* [3], cuál es la frecuencia en qué estas mutaciones se presentan en los cánceres más comunes y hemos establecido una norma matemática para definir el concepto de distancia según su parecido. Estos resultados han permitido determinar que, de entre todos los cánceres estudiados, el cáncer de útero es el más similar al de colon si tomamos como referencia las mutaciones de los dos estudios.

Para dar una base aún más sólida a los resultados obtenidos, hemos utilizado la misma metodología para comprobar, también, la distancia entre los cánceres con los registros de casos de pacientes de dos otras bases de datos que son referentes a nivel mundial: *COSMIC* [4] y *cBioPortal* [5]. En este análisis también ha sido el cáncer de útero el más parecido.

Con esta información se ha propuesto la hipótesis que, si la combinación de galunisertib y anti-PD-L1 sirve para tratar e inhibir los cánceres metastáticos de colon y vejiga, también podría utilizarse para tratar el cáncer de útero.

Indicacions per llegir el treball

A continuació proposem unes quantes indicacions amb l'objectiu d'ajudar el lector a entendre millor el treball i facilitar-ne la seva lectura:

- a) S'ha inclòs un glossari que incorpora paraules rellevants per a la comprensió del treball, possiblement desconegudes per als lectors que no estiguin familiaritzats amb l'àmbit que tractem, tal i com ens va passar a nosaltres en iniciar la recerca. El glossari es troba als annexos i s'hi poden localitzar les definicions de les paraules de caràcter científic que no s'expliquen en el treball.
- b) Els peus de pàgina ofereixen informació addicional que resulta d'interès per al lector, però que no pot ser inclosa en el text bàsic de manera fluïda. També s'han utilitzat per citar la majoria d'informació que es troba als annexos. Als peus de pàgina no apareixen els conceptes que no s'hagin explicat abans detalladament al text, ja que es recullen al glossari.
- c) Tots els articles, pàgines web, llibres o altres fonts documentals es recopilen a la bibliografia i estan citats al text amb el número amb què estan enumerats a la bibliografia posat entre claudàtors. La bibliografia s'ha ordenat per ordre d'aparició en el text.

Capítol 1

Introducció

El 22 de febrer d'aquest any 2018 es va publicar a la revista *Nature*¹ un important estudi [1] dut a terme des de l'IRB (Institute for Research in Biomedicine) de Barcelona, que pot canviar l'abordatge del càncer de còlon en estadis avançats, especialment metastàtics.

Aquest estudi demostra que la progressió del càncer colorectal (CCR) generalment coincideix amb mutacions simultànies en quatre vies de senyalització: Wnt, EGFR, p53 i TGF β . Aquest fet dóna lloc a una disminució de la infiltració de cèl·lules T-Helper (leucòcits) al tumor i a un augment de nivells de la proteïna TGF β al microambient del tumor. També demostra que l'exclusió de les cèl·lules T del teixit tumoral, produïda per l'increment de TGF β , representa el mecanisme primari d'evasió immunitària i és la responsable de la mala evolució de la malaltia. En les imatges que els autors presenten en aquest estudi, n'hi ha una de molt significativa que hem volgut referenciar (**figura 1.1**) perquè es veu clarament com les cèl·lules T-Helper queden fora del tumor.

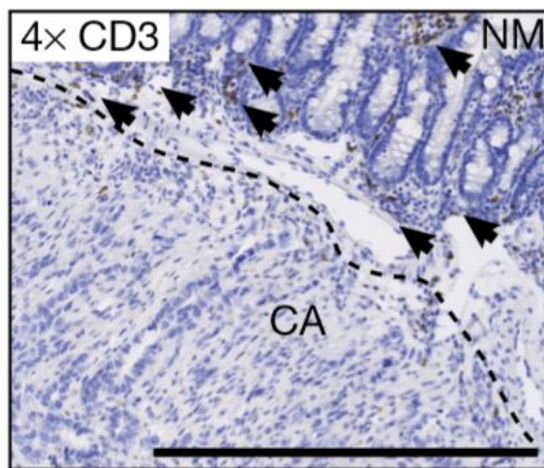


Figura 1.1 – Immunohistologia d'un tumor de còlon amb totes les mutacions de l'estudi (LAKTP) on NM és la mucosa normal i CA el teixit cancerós. Les fletxes indiquen els CD3 (limfòcits T), de manera que es pot veure com les substàncies del microambient del tumor aconsegueixen mantenir les cèl·lules del sistema immunitari fora del seu territori. **Font:** Article de Batlle et al. [1].

1. *Nature* és una revista científica britànica, considerada de les més prestigioses del món, que publica investigacions originals sobre un ampli ventall de camps científics.

En tractar ratolins que presenten mutacions localitzades en aquestes quatre vies de senyalització (mutacions Apc1, Kras, Tgfbr2 i Trp53 i el controlador Lgr5, designades AKTPL respectivament) amb la combinació de dos fàrmacs, galunisertib + un inhibidor PD-L1, els autors demostren que es disminueix marcadament la càrrega metastàtica i que molts d'aquests ratolins es poden curar, obtenint-se una resposta a llarg termini. Aquest fet es produeix perquè la combinació d'aquests dos fàrmacs dona lloc a una pronunciada resposta immunològica: el galunisertib inhibeix específicament la TGF β i permet l'entrada de les cèl·lules T al tumor, les quals provoquen una resposta antitumoral gràcies al fàrmac anti-PD-L1 que estimula el sistema immunitari i fa que els leucòcits reconguin les cèl·lules tumorals. Això causa una regressió del càncer, molt major que cap de les dues substàncies actuant per separat.

A aquest rellevant descobriment cal sumar-li el fet que el mateix dia (22/2/18) i també a la revista *Nature* es va publicar un altre article [2] d'investigadors americans que arribaven a la mateixa conclusió amb el càncer metastàtic de bufeta però amb diferents vies de senyalització mutades. I, encara més, una setmana més tard a la mateixa revista, un altre equip d'investigació americana publicava un article [6] on s'anunciava la creació d'una molècula que combinava un agent anti-PD-L1 (o CTLA-4, un anticòs molt semblant) i un receptor de TGF β demostrant que l'eficàcia antitumoral d'aquesta molècula formada per la unió dels dos components era clarament superior a l'obtinguda utilitzant-los per separat.

D'altra banda, tot i que s'han trobat multitud d'alteracions genètiques i epigenètiques en els diferents tipus de càncers, fa temps que es treballa en la possibilitat que siguin pocs canvis els rellevants per a la malignitat tumoral, com pot ser el guany d'un oncogen, la pèrdua d'un gen supressor o l'activació de certes vies de senyalització.

El nostre treball es basa en un exhaustiu estudi de la base de dades que ens van proporcionar des de la Universitat d'Edimburg i la cerca del màxim de similituds en les mutacions entre els tumors més freqüents i les dels càncers de còlon i bufeta dels estudis publicats a *Nature*. La hipòtesi establerta ha estat que si el tractament de galunisertib + un inhibidor PD-L1 ha estat útil contra el càncer de còlon i bufeta metastàtics, també ho podria ser per a tumors causats per mutacions similars.

Cal tenir present que el tractament personalitzat de les alteracions genètiques és el que ha permès passar de respostes molt baixes a tractaments de determinats càncers, especialment els avançats, a taxes de respostes molt importants en poblacions seleccionades de pacients. Es pot dir que hem entrat a l'era del "teragnòstic", en la qual les troballes moleculars han de permetre millorar molt el pronòstic dels pacients oncològics avançats i, per què no, curar-los.

També és important tenir en compte que provar un nou tractament en humans és molt costós, tant a nivell econòmic, com a nivell d'expectatives que en ell hi posen els pacients i els professionals. És per això que estudis matemàtics que permetin saber a quins pacients poden ser més útils els fàrmacs antitumorals són absolutament necessaris i els importants descobriments recents poden ser molt útils per avançar en aquesta direcció.

1.1 Motivació

El tema del treball es deu a la nostra participació al certamen Richi Talent² en el qual els organitzadors van deixar escollir als participants entre diversos temes. Nosaltres vam decidir desenvolupar el de “Gens i càncer, avançant cap a la medicina personalitzada”, tutoritzat des de la Universitat d’Edimburg, des d’on ens van proporcionar el coneixement de les bases de dades utilitzades. Llavors vam orientar el nostre treball a partir de l’article de l’IRB [1] que vam llegir al diari poc després de decidir-nos per afrontar aquest repte i que pot fer canviar l’abordatge d’aquesta malaltia.

El certamen va ser la nostra principal motivació per desenvolupar aquest treball però també ho ha estat el nostre interès pel conjunt de malalties que s’engloben en el terme “càncer” i la nostra vocació per les ciències mèdiques i la investigació científica, així com les ganes de descobrir un món nou per a nosaltres com és el de la biologia molecular.

1.2 Hipòtesis i objectiu

La nostra primera hipòtesi ha estat que si el tractament de galunisertib + un inhibidor de PD-L1 és útil per al càncer de còlon i bufeta metastàtics, també ho podria ser per a tumors que hagin patit mutacions similars en les vies de senyalització estudiades en els articles de *Nature* [1] i [2].

Durant la nostra recerca sobre aquestes vies de senyalització vam buscar en primer lloc quins càncers eren causats més freqüentment per a cada una les mutacions específiques del càncer de còlon publicades a l’article de Batlle *et al.* [1]. Com es pot comprovar a les figures 4, 6, 10, i 15, que apareixen més endavant, el càncer uterí (UCEC) surt recurrentment com a un dels més destacats en les llistes de càncers afectats per aquestes mateixes mutacions, fet que ens va sorprendre d’entrada. En concret, de 30 mutacions, 26 vegades UCEC era el primer, en una ocasió el segon, en una altra el tercer, en una altra el quart i en una altra el tretzè. Això ens feia pensar que al realitzar l’estudi matemàtic sortiria UCEC com al més semblant.

En segon lloc, vam buscar la informació sobre les mutacions esmentades a l’article de Mariathan, Turley, Nichles *et al.* [2] i també va resultar que el càncer d’úter era un dels més prevalents.

Si els autors d’aquests dos articles van arribar a la conclusió que la combinació d’aquests dos tipus de fàrmacs és eficaç per al tractament de dos càncers tan diferents però amb mutacions tan similars que també comparteixen amb el càncer d’úter, la nostra segona hipòtesi va ser que aquest segurament era el més semblant i per tant el més adient per proposar aplicar el mateix tractament. Tot això abans de començar a elaborar la part estadística que ens ho confirmés.

Així doncs hem encarat el nostre treball a crear un model matemàtic amb l’objectiu de trobar i quantificar relacions de semblança entre 29 tipus diferents de càncer i els de còlon i bufeta metastàtics, un total de 31, per proposar aplicar en futurs experiments el mateix tractament contra els càncers més semblants, en els quals ha resultat eficaç.

2. La *Richi Cancer Foundation* va organitzar un concurs de treballs de recerca amb la col·laboració de diverses institucions i universitats d’arreu del món per fomentar el talent i la investigació entre gent jove.

1.3 Metodologia

La metodologia del nostre treball es basa en un exhaustiu estudi de la base de dades que ens van proporcionar des de la Universitat d'Edimburg gràcies als organitzadors del certamen Richi Talent i en la cerca del màxim de similituds entre les mutacions dels diversos tumors i les dels càncers de còlon i bufeta dels estudis publicats a *Nature* [1] i [2].

Vam treure la idea dels mitjans de comunicació, concretament del diari, on vam llegir la notícia de la publicació de l'article de l'equip d'investigació de l'IRB [1] que canviava la perspectiva de tractament per al càncer de còlon avançat justament quan començàvem a fer la recerca. Això ens va portar a buscar més informació sobre el tema i a buscar articles similars. Després vam haver d'entendre els dos estudis escollits, que requerien un coneixement de biologia molecular i genètica que no teníem. Per fer-ho vam llegir molta informació, especialment sobre les vies de senyalització, els diferents tipus de càncers i els seus tractaments.

També van ser cabdals les entrevistes a dos professionals del món de la genètica i l'oncologia, un dels quals és un dels signants d'un dels articles sobre el qual hem centrat gran part del nostre treball.

La primera entrevista va ser presencial i no transcrita ni enregistrada al doctor Alberto Plaja, genetista de l'àrea de genètica clínica i molecular de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron, el dia 29 de març. El Dr. Plaja es va oferir a tutoritzar aquest treball des de l'inici i va aportar-nos moltes idees sobre com encaminar-lo quan tot just l'estàvem començant.

La següent entrevista la vam realitzar també el dia 29 de març a l'Institut de Recerca Biomèdica (IRB) del Parc Científic de Barcelona al Dr. Adrià Cañellas. Vam poder contactar amb ell a través del Dr. Batlle, autor principal de l'article sobre el càncer colorectal [1], que ens va respondre per correu electrònic i ens va proporcionar el contacte. Un cop a l'IRB vam poder exposar al Dr. Cañellas tots els nostres dubtes i enregistrar l'entrevista. A més, vam poder visitar les instal·lacions de l'IRB, els dos laboratoris que utilitza el seu equip i visualitzar mostres de teixits³.

La tercera entrevista la vam realitzar a través d'un intercanvi de correus electrònics amb el Dr. Plaja a partir del dia que el vam anar a visitar, és a dir, el 29 de març. Va ser llavors quan li vam enviar la part del treball que teníem feta fins al moment i algunes preguntes sobre genètica i vies de senyalització. Ell ens va respondre totes les preguntes i ens va suggerir abundants fonts bibliogràfiques. Més endavant vam tornar a contactar amb ell per enviar-li una nova versió del treball i va fer nombroses aportacions que ens han permès millorar significativament la recerca⁴.

Un cop recopilada tota la informació necessària, hem desenvolupat un estudi matemàtic que ens ha permès comparar les mutacions que caracteritzen els diferents tipus de càncers per tal de trobar semblança entre ells.

A partir dels resultats hem elaborat gràfiques que permeten veure fàcilment el nivell de semblances entre els tumors i les hem discutit a l'apartat de resultats i discussió.

Per donar més fiabilitat als nostres resultats, hem fet el mateix càlcul amb dues altres bases de dades amb molta importància en el món de la investigació de les mutacions genètiques i

3. Veure la transcripció de l'entrevista completa als annexos.

4. Veure la transcripció de tots els correus electrònics als annexos.

la seva relació amb el càncer. Volíem comprovar si utilitzant dades de pacients diferents, el càncer d'úter seguia sent un dels més semblants respecte al de còlon i bufeta.

Finalment, per concloure el treball hem escrit les conclusions de l'estudi realitzat durant tots aquests mesos i hem plantejat les aplicacions que podria tenir en el futur.

1.3.1 Bases de dades

Per al nostre treball ens hem servit de diferents bases de dades on s'emmagatzemen milers de casos de càncer que investigadors de diferents països van introduint i que és d'on es treuen generalment les dades per fer estudis d'investigació.

Les principals bases de dades que recullen les mutacions relacionades amb el càncer a nivell mundial són les tres que hem utilitzat i que expliquem a continuació:

- a) **National Institute of Health (NIH)** [3]: aquesta va ser la primera base de dades que ens van recomanar. Ens la van aconsellar els membres de la Universitat d'Edimburg que col·laboraven amb el certamen Richi Talent.

Ha estat la nostra principal font d'informació ja que a diferència de les altres s'hi troba fàcilment el percentatge de casos que presenten les mutacions d'una proteïna concreta respecte el total de pacients de cada càncer, fet que ens ha facilitat molt la recollida d'informació per al nostre estudi. També aporta gran quantitat d'informació addicional així com un ampli nombre de gràfiques. Moltes d'elles les hem incorporat a l'apartat d'estat de la qüestió perquè són molt il·lustratives.

NIH forma part del Departament de Salut i Serveis Humans dels Estats Units (USDHHS) i també de l'agència nacional de recerca mèdica americana. Està oberta gratuïtament a tots els usuaris del món i traduïda a diverses llengües.

- b) **Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)** [4]: aquesta va ser la segona base de dades que ens van recomanar des de la Universitat d'Edimburg a través de l'aplicació Podio⁵. L'hem utilitzat per comprovar la validesa dels resultats obtinguts utilitzant la primera base de dades. El principal inconvenient ha estat que la classificació i nomenclatura dels tumors no és la mateixa. Ex.: mentre que COAD i READ són els càncers de còlon i recte respectivament a l'NIH, a COSMIC s'hi refereixen com a càncer d'intestí gros.

Segons la seva pàgina web és la «font mundial més extensa per explorar l'impacte de les mutacions somàtiques en càncer humà» ja que compta amb més de 32.000 genomes.

Aquesta base de dades té com a origen el Regne Unit i està oberta també al públic general de forma gratuïta.

- c) **cBioPortal** [5]: aquesta base de dades ens la va recomanar el doctor Cañellas quan li vam fer l'entrevista.

També és una base de dades bastant intuïtiva que permet organitzar la informació per mutacions o per tumors. Per a nosaltres té l'avantatge que utilitza una nomenclatura molt semblant a la de la primera d'on vam treure la informació.

5. Eina on-line que permet crear espais virtuals des d'on poden treballar diverses persones alhora.

Originalment fou desenvolupada pel Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK), però actualment intervenen en el seu manteniment diverses institucions de renom: MSK, el Dana Farber Cancer Institute, el Princess Margaret Cancer Centre de Toronto, el Children's Hospital of Philadelphia, The Hyve dels Països Baixos i la Bilkent University d'Ankara.

Capítol 2

Estat de la qüestió

En començar el treball ens vam adonar que els coneixements que teníem fins al moment no eren suficients per entendre els processos que s'explicaven als diferents articles científics que anàvem llegint, especialment al de Batlle *et al.* [1]. És per això que, en primer lloc, ens vam centrar en què és el càncer, com es desenvolupa i a entendre les quatre vies de senyalització que es tractaven en aquest article en concret (Wnt, EGFR, p53 i TGF β): els seus components, el seu funcionament i la seva relació amb els diferents tipus de càncers [7]. Una vegada enteses aquestes vies vam estudiar també les que sortien a l'article de Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2], especialment la via IFN γ .

2.1 Què és el càncer?

Com ens va dir el Dr. Alberto Plaja, especialista que treballa a l'àrea de genètica clínica i molecular de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron: «el càncer realment són moltes malalties causades per una acumulació gradual de mutacions»¹. Les mutacions són els canvis de l'ADN que pateix una cèl·lula al llarg del seu cicle vital, que poden ser beneficiosos o perjudicials.

La manera com han de funcionar les cèl·lules està codificada, com tota la resta d'informació que gestiona els processos vitals d'un ésser humà, en els gens ubicats al nucli. Tota aquesta informació que porta cada seqüència de gens, serveix per crear interminables seqüències de proteïnes que es creen permanentment per a dur a terme les tasques adients a cada racó del cos. La correcta activació d'aquests gens està controlada per senyals en forma de proteïnes, les anomenades vies de senyalització. En els processos cel·lulars hi ha tantes parts implicades que és probable que alguna d'elles muti, és a dir, que canviï. Quan són els gens els que s'alteren, el procés de creació de les proteïnes també és afectat i per tant, aquestes són diferents, però de vegades és una de les proteïnes dels senyals que activa els gens que s'altera o falla a causa d'alguna mutació. Això es pot traduir en una situació de millora funcional, és a dir, en una evolució, o bé en el descontrol de processos fisiològics que acaben manifestant-se com a disfuncions d'algun òrgan o com a un descontrol en la capacitat reproductiva de les cèl·lules.

El nostre cos ja està dotat dels mecanismes suficients per arreglar la majoria de mutacions no desitjades, com per exemple la revisió de la correcta duplicació de la cadena d'ADN abans

1. Veure el 5è correu de l'entrevista als annexos

de la reproducció, l'apoptosi (mort cel·lular programada) si hi ha algun mecanisme que falla o el mateix sistema immunitari que s'encarrega d'eliminar tot el que en un principi és aliè o perjudicial per a l'organisme. Tot i així, un càncer apareix quan una cèl·lula és afectada per un important nombre de mutacions que fan que perdi el control. D'aquesta manera la cèl·lula es reproduïx sense parar i no s'elimina a ella mateixa, llavors produeix altres cèl·lules cancerígenes descontrolades, el conjunt de les quals anomenem tumor. En ser moltes cèl·lules en contínua expansió cada vegada són més capaces de saltar-se els mecanismes de defensa del cos fins que aconseguixen una irrigació del corrent sanguini suficient perquè els tumors continuïn creixent i passin a altres teixits (procés de metàstasi).

2.2 Què són les vies de senyalització?

Tal i com les defineix l'Institut Nacional del Càncer dels Estats Units², les vies de senyalització són:

Grup de molècules d'una cèl·lula que treballen juntes per controlar una o més funcions de les cèl·lules, com la multiplicació o la mort cel·lular. Després que la primera molècula en una via de senyalització rep un senyal, aquesta activa les altres molècules. Aquest procés es repeteix fins que l'última molècula s'activa i la cèl·lula realitza la funció [8].

Per tant, podem pensar en les vies de senyalització com si fossin equips de senyals com els dels llums de casa o una televisió, en els quals hi ha un emissor que activa un receptor, el qual comença a produir una sèrie d'accions concretes per aconseguir el resultat final de tot aquest procés.

Les proteïnes són les principals biomolècules que es troben a les cèl·lules i són les que s'organitzen creant aquestes xarxes funcionals. Fins ara, més de 300 vies intracel·lulars han estat identificades en cèl·lules humanes, totes elles formades per molècules receptores de senyals extracel·lulars, transductores (transmeten el senyal), sensors (reben el senyal) i efectores (executen el senyal) de respostes biològiques [9].

Així doncs, les vies proporcionen els mecanismes per organitzar la informació molecular i, a més, de manera precisa, ja que els receptors que es troben a la superfície cel·lular s'uneixen a molècules específiques. Tot i la complexitat del traspàs d'informació a causa de la implicació de tantes molècules, una cèl·lula pot tenir dotzenes de receptors diferents que reben senyals cap a l'interior de la cèl·lula al mateix temps. I a tota la dificultat que suposa coordinar aquesta xarxa d'informació se li ha d'afegir el fet que hi ha vies de senyalització que comparteixen components entre elles.

Una altra dada important a tenir en compte és que les vies reben generalment el nom de la molècula que les activa. Per exemple, en el cas de la via Wnt, tota la via rep el nom d'aquesta molècula que, un cop és captada per un receptor, afavoreix la proliferació cel·lular.

2. L'Institut Nacional del Càncer (NCI) és la principal organització del govern dels Estats Units d'investigació i capacitat per al càncer.

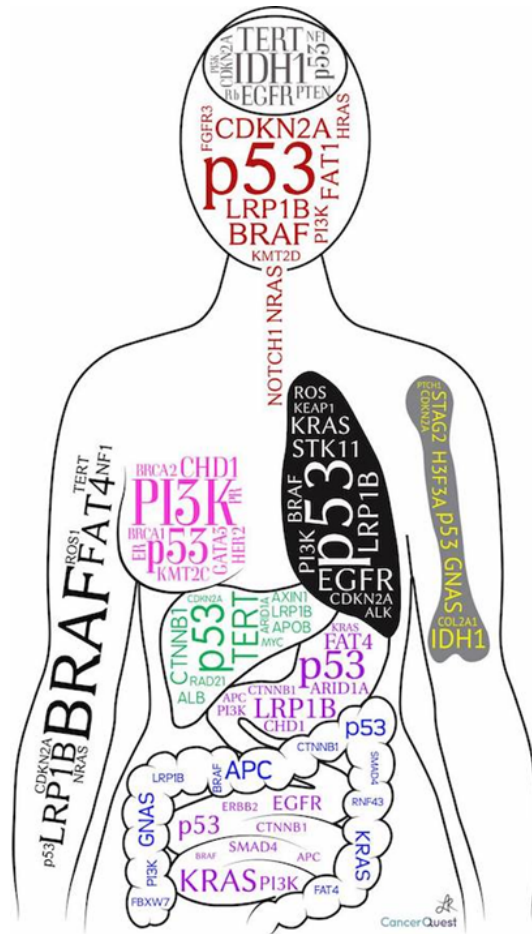
2.3 Relació entre les vies de senyalització i el càncer

La quantitat de processos cel·lulars és ingent. La conservació de la vida i de les característiques d'una espècie radica en múltiples sistemes de control que es combinen amb tendències oposades en busca d'un equilibri que podríem qualificar d'essencialment inestable: agonistes vs. antagonistes, acceleradors vs. alentidors, facilitadors vs. inhibidors.

Entendre com funcionen els processos i quins són i com actuen els seus sistemes de control és fonamental per dissenyar estratègies que ajudin a recuperar l'equilibri perdut. Per tant, la lluita contra el càncer no es pot limitar a saber per què apareixen mutacions en els gens o a eliminar allò que el cos ha estat incapaç de controlar. Tota la cadena de processos de control que, de forma natural eliminen la progressió dels canvis que poden comprometre la vida, ha de ser objecte de comprensió i revisió per buscar mètodes per suplir-los quan es veuen desbordats. I un dels punts clau són les vies de senyalització.

Actualment s'estan recollint dades a nivell mundial que relacionen casos de càncers amb les mutacions genètiques que pateix cada individu. Gran part dels estudis es focalitzen en les vies de senyalització que intervien en el control de la reproducció i la supervivència cel·lulars. En aquestes vies intervien múltiples proteïnes que interactuen en diferents moments i zones de l'entorn de la cèl·lula. Una mutació genètica que tingui com a resultat la síntesis errònia d'alguna d'aquestes proteïnes pot afeblir una part d'aquests sistemes de control i augmentar la probabilitat que es desenvolupi un càncer. A més, segons les mutacions que tinguin lloc es desenvoluparà un tipus de tumor o a un altre, o el què és el mateix, cada tipus de tumor a l'analitzar el seu teixit, té unes mutacions que són les que el produeixen (**figura 2.1**). I aquest fet pot ser cabdal de cara a l'abordatge terapèutic, com veurem al llarg del treball.

Abans, però, d'estudiar les vies utilitzades en aquest treball una per una, per conèixer els seus components i comprendre els seus mecanismes d'acció, abordarem l'estudi dels gens encarregats de la proliferació cel·lular, els anomenats proto-oncogens i gens supressors tumorals, molt importants pel funcionament de cada una de les vies de senyalització.



2.3.1 Proto-oncogens i supressors tumorals

Tal com descriu el Centro de Investigación del Cáncer (CIC)³:

El càncer es forma com a resultat d'una acumulació successiva i additiva de mutacions en proto-oncogens i gens supressors tumorals que afecten el creixement, la diferenciació i la supervivència cel·lular [10].

Els proto-oncogens i els gens supressors, són gens encarregats de gestionar el cicle vital cel·lular, ja sigui la seva proliferació, la seva diferenciació o la seva mort. Quan aquests gens es veuen mutats, es crea una descompensació en aquestes activitats que tendeix a desenvolupar la formació d'un càncer.

Aquests gens es classifiquen en dues famílies segons el seu comportament:

- Els proto-oncogens són gens que principalment regulen i estimulen la proliferació cel·lular i la supervivència de la cèl·lula. Aquests esdevenen oncogens implicats en la carcinogènesi en ser activats, per exemple, per una mutació puntual. Quan un proto-oncògen pateix alguna mutació, aquest perd el control de la seva funció, esdevé un oncògen i hiperestimula aquests fenòmens cel·lulars, obtenint-se com a resultat l'aparició d'un càncer.
- Els gens supressors o gens anti-oncogens funcionen com a suport dels proto-oncogens, ja que la seva funció principal és la inhibició de la reproducció cel·lular en excés i la inducció de l'apoptosi (suïcidi cel·lular). En altres paraules, els anti-oncogens s'encarreguen de reduir la probabilitat de formar un càncer. Quan aquests gens són mutats, són incapaços de dur a terme la seva funció, donant com a resultat una major probabilitat d'un descontrol en aquestes funcions i augmentant el risc de patir un càncer.

Per acabar d'assimilar els conceptes, explicarem a continuació un símil que a nosaltres ens va ajudar a entendre'ls:

Posem per cas un camió que baixa per un pendent bastant pronunciat. El vehicle en principi, té certs mecanismes que li permetran arribar a baix sense problemes i continuar el seu trajecte. En aquest cas, podríem comparar els proto-oncogens amb el sistema d'acceleració i els gens supressors tumorals amb els frens. Si hi ha una averia (mutació) que fa que el sistema d'acceleració es sobre-estimuli, el camioner tindrà serioses dificultats per arribar a bon port. Si a sobre es produeix una altra avaria en els frens, les probabilitats d'una bona conducció passen a ser pràcticament nul·les.

3. El CIC és un centre d'investigació integral del càncer fundat l'any 1997 al voltant de l'Institut de Biologia Molecular i Cel·lular del Càncer (IBMCC), depenent de la Universitat de Salamanca (USAL) i el Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC).

2.4 Principals vies de senyalització utilitzades en el treball

2.4.1 Via Wnt/ β -Catenina

Via de senyalització proto-oncogènica que s'ha mantingut al llarg de l'evolució i que trobem en les cèl·lules d'espècies molt allunyades entre sí, des de mosques de la fruita (com *Drosophila melanogaster*) fins als humans, destacant així la seva transcendència biològica. Té un important paper en l'embriogènesi i la carcinogènesi.

N'existeixen de tres tipus: via canònica (β -catenina dependent), via no canònica de polaritat cel·lular (β -catenina independent) i via no canònica calcificada (també β -catenina independent). Totes elles són activades mitjançant la unió d'una proteïna Wnt amb un receptor de la família Frizzled que transfereix el senyal biològic a la proteïna Dishevelled (Dsh), que es localitza dins de la cèl·lula. La via canònica condueix a la regulació de la transcripció genètica, la no canònica regula el citoesquelet (responsable de la forma de la cèl·lula) i la no canònica calcificada regula la quantitat de calci de l'interior de la cèl·lula.

Aquesta via té una gran importància i és per això que està controlada per un intricat joc de potents Wnt agonistes, antagonistes, i anti-antagonistes, que veurem a continuació:

2.4.1.1 Components de la via Wnt

Els components de la via Wnt/ β -catenina es poden visualitzar a la **figura 2.2** i són els següents:

- a) **APC**: proteïna que forma part del complex de destrucció de la β -catenina (juntament amb altres proteïnes que també tenen un paper rellevant en la carcinogènesi, com són Axin, CK1 α , GSK3 β , etc.) i que també participa en l'adhesió cel·lular i l'estabilitat dels microtúbuls. Tenint en compte les seves propietats, el gen que la codifica és conegut com un gen supressor de tumors, ja que funciona com un regulador negatiu de la via de senyalització Wnt/ β -catenina. Mutacions en aquest gen s'associen amb diferents càncers, especialment el colorectal.
- b) **β -catenina** [12]: proteïna de 781 aminoàcids, codificada pel gen CTNBB1 que es localitza al cromosoma 3p22. És el principal component de la via Wnt/ β -catenina i té dues funcions importants: a) regulació de la transcripció i activació de la proliferació cel·lular, b) adhesió cèl·lula-cèl·lula. És important tenir en compte que en absència del lligand Wnt, la via no està activa i la proteïna β -catenina es degrada; en canvi, quan la via està activa de forma continuada (per exemple per una mutació genètica) s'impedeix la degradació de la β -catenina, que s'acumula al citoplasma i actua contínuament com activadora de la proliferació cel·lular. L'acumulació de β -catenina i la seva localització nuclear estan relacionades amb un pitjor pronòstic del càncer colorectal. A més a més del lligand Wnt, hi ha altres factors que estan involucrats en la regulació de la β -catenina, per exemple el receptor de la tirosina quinasa del factor de creixement epidèrmic (EGFR) o proteïnes codificades pels gens supressors de tumors p53 i PTEN.
- c) **R-spondins**: són quatre tipus de proteïnes (R-spondins 1-4) agonistes de l'inici del senyal Wnt. Estan codificades pel gen Rspo1 que es localitza al cromosoma 1. Interactuen

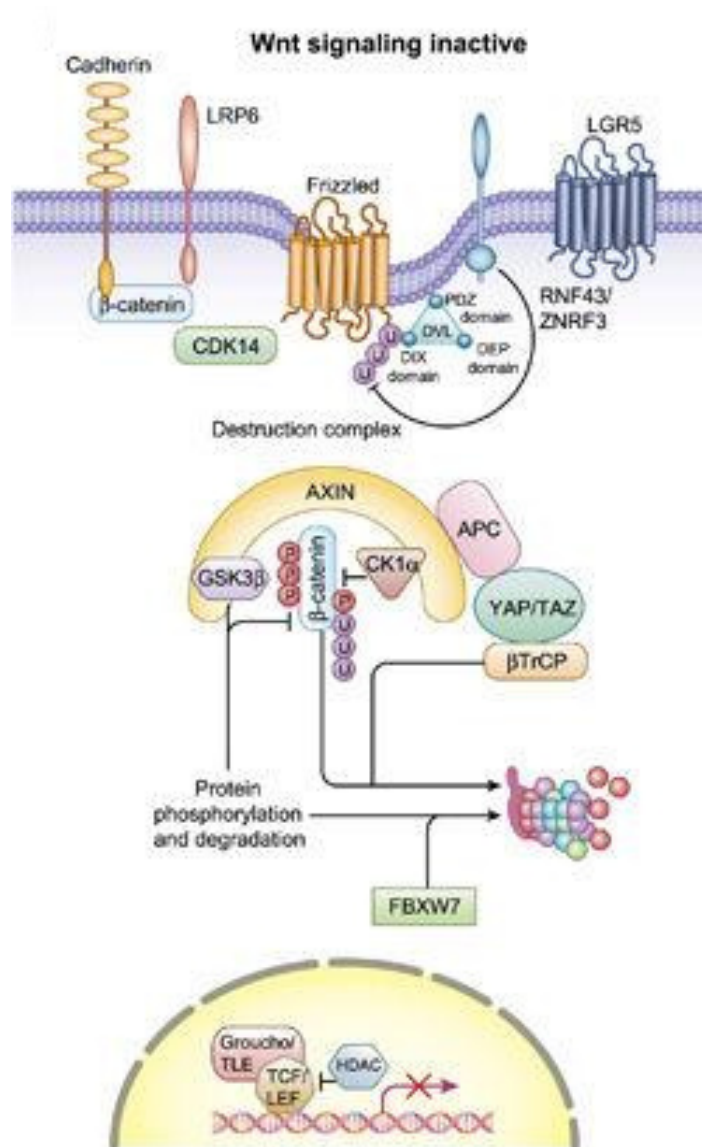


Figura 2.2 – *Components de la via Wnt/ β -catenina.* **Font:** [11].

amb el complex receptor Frizzled/LRP6, de manera que estimulen la via de senyalització Wnt/ β -catenina. També s'uneixen als receptors LGR (4,5,6), formant el complex R-spondin/Lgr/RNF43 que inhibeix les RNF43 i les Znf3 i per tant, també donen lloc a una activació de la via.

- d) **RNF43**: proteïna codificada pel gen RNF43, localitzat al cromosoma 17. Forma un complex amb la proteïna Znf3. Les dues actuen com a inhibidors dels receptors de Wnt, és a dir, provoquen la seva degradació.
- e) **Wnt**: grup de proteïnes (glicoproteïnes que tenen 350-400 aminoàcids de llargada) que formen vies de transducció de senyals (transfereixen senyals de l'exterior a l'interior d'una cèl·lula a través de la superfície receptora d'aquesta cèl·lula). La seva importància clínica ha estat demostrada perquè si muten causen una gran varietat de malalties, incloent el càncer de mama, de còlon, de pròstata i glioblastoma.

2.4.1.2 Funcionament de la via Wnt

La via Wnt/ β -catenina pot estar inactiva o activa (**figura 2.3**):

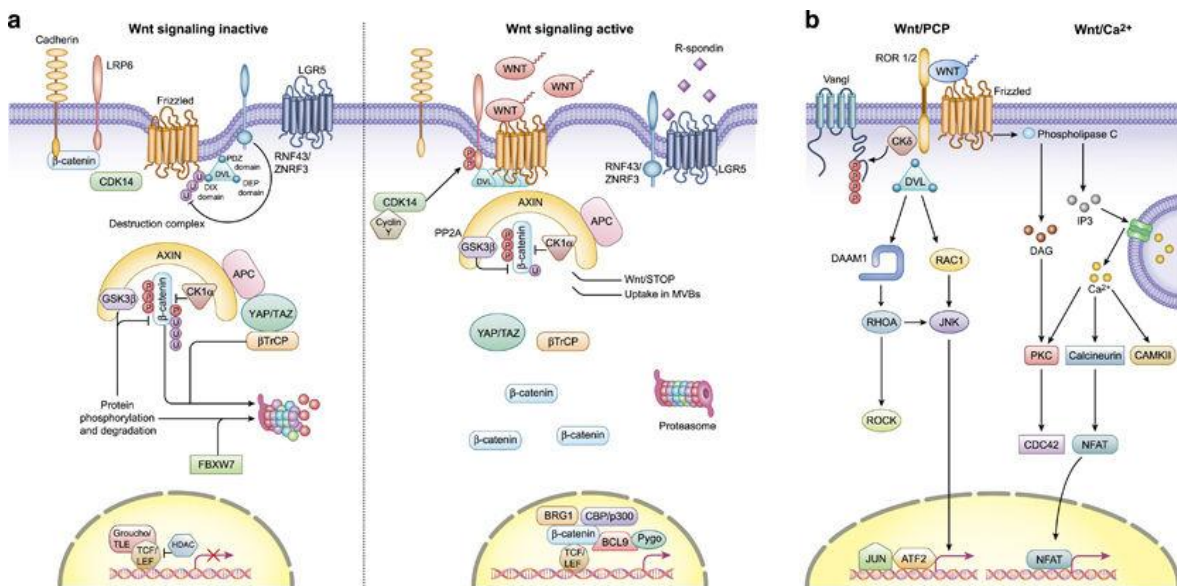


Figura 2.3 – **a)** Via canònica (β -catenina dependent) i **b)** via no canònica o β -catenina independent. En la via canònica es mostra com en absència d'Wnt lligands, la via està inactiva i la β -catenina forma part del complex de destrucció, de manera que és fosforilada i destruïda. En canvi, amb l'arribada d'Wnt lligands, aquests s'uneixen als Frizzled receptors i LRP co-receptors la via s'activa: les proteïnes Dvl condueixen a la separació del complex de destrucció, de manera que la β -catenina queda lliure al citoplasma i es trasllada cap al nucli, on forma un complex transcriptor juntament amb LEF (lymphoid enhancer factor) i TCF (T-cell factor). **Font:** [11].

- Via inactiva** [11]: quan la via està inactiva, la β -catenina es troba en el complex de destrucció amb APC, Axina i les quinases CK1 i GSK3 β , que s'encarreguen de fosforilar la β -catenina, de manera que s'impedeix la seva acumulació al citoplasma i la seva translocació al nucli.
- Via activa** [11], [12]: Wnt s'uneix al lligand Fz i LRP5-6, que produeix la fosforilació de CK1 i GSK3 β , generant un lloc d'unió per l'axina i el reclutament a la membrana cel·lular de les proteïnes del complex de destrucció. Així la β -catenina pot acumular-se al citoplasma i ser traslocada al nucli, on actua com a factor de transcripció de gens de proliferació cel·lular, diferenciació i manteniment de cèl·lules mare.

2.4.1.3 Alteracions genètiques de la via Wnt i càncer

La via de senyalització Wnt/ β -catenina juga un paper decisiu en els processos de regulació, diferenciació, proliferació i mort cel·lular, de manera que està involucrada en nombroses anormalitats del desenvolupament embrionari, del creixement i l'homeostasi. Així mateix, hi ha moltes evidències que mutacions en aquesta via de senyalització apareixen molt freqüentment en diversos tipus de càncers humans. A la **figura 2.4**, per exemple, podem veure els ratis de mutacions de components d'aquesta via en quatre tumors freqüents: melanoma, adenocarcinoma de pàncrees, adenocarcinoma colorectal i càncer de mama.

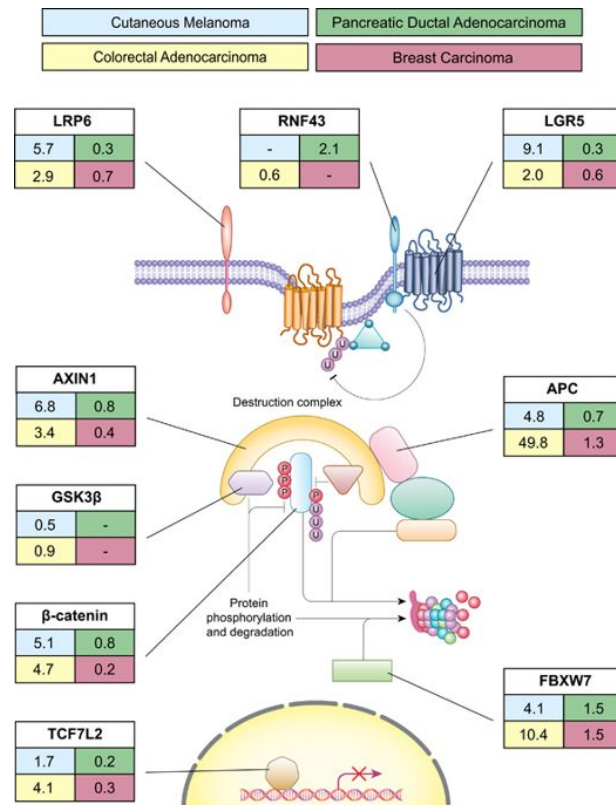


Figura 2.4 – Ratis de mutacions a la via Wnt en el melanoma, el càncer de pàncrees, el colorectal i el de mama. **Font:** [11].

Segons la base de dades americana del *National Cancer Institute*, els tipus de càncers que tenen més freqüentment mutacions en els principals components d'aquesta via són els que apareixen a la **figura 2.5**. Podem destacar que el càncer d'úter és un dels que apareix en primera posició en els percentatges de mutacions dels components de la via Wnt/β-catenina. També és rellevant que per a la proteïna APC (una de les més importants de la via), els càncers amb més percentatge de mutacions són el de recte, el de còlon i el d'úter respectivament, que són els protagonistes del nostre estudi.

2.4.2 Via TGFβ

També anomenada via de senyalització del factor de creixement transformant beta, és una seqüència d'esdeveniments moleculars implicats en un gran nombre de processos cel·lulars tant embrionaris com de l'ésser humà. Afecta diverses etapes cel·lulars, incloent el creixement i diferenciació cel·lulars, el procés d'apoptosi o mort cel·lular i l'homeòstasi o equilibri dinàmic. Un mal funcionament d'aquesta via de senyalització dona lloc a diferents problemes immunològics i processos cancerígens [13].

2.4.2.1 Components de la via TGFβ

- TGFβ** [13]: superfamília de factors de creixement, amb tres isoformes en els mamífers (TGFβ 1, 2 i 3). Són proteïnes que estan involucrades en molts processos cel·lulars i que són fonamentals en l'embriogènesi i en el desenvolupament. En els mamífers s'han

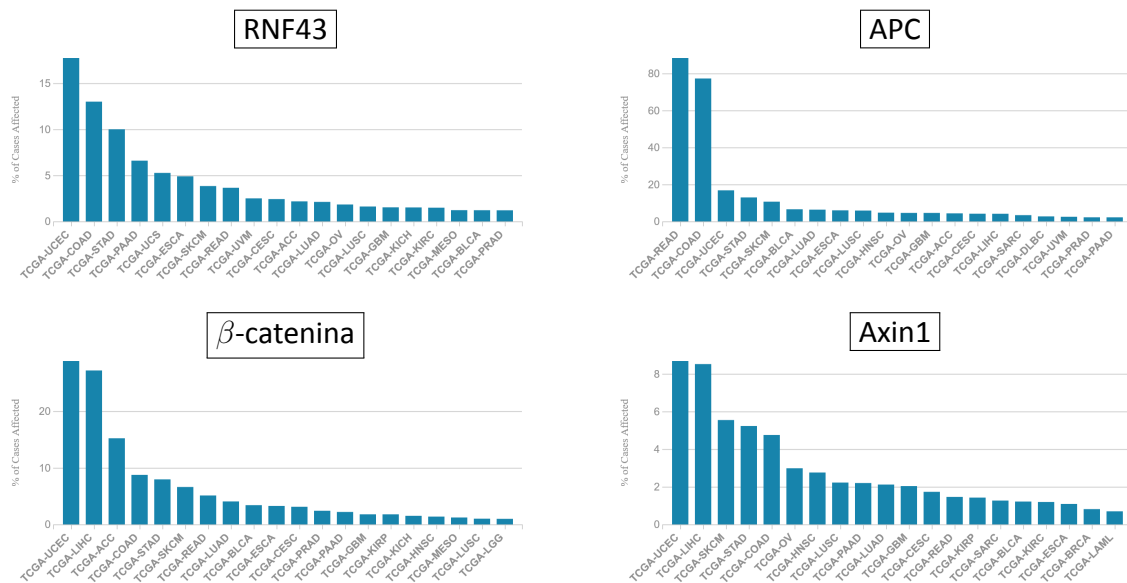


Figura 2.5 – Percentatge de mutacions en els principals components de la via Wnt segons el tipus de càncer, ordenats de més a menys afectació. **Font:** base de dades americana del National Cancer Institute [3].

Veure la nomenclatura completa dels diferents tumors a la **taula 3.1**.

trobat set tipus de receptors TGFβ 1 i cinc de tipus 2. La molècula amb una funció més àmplia és la TGFβ 1, que és la que s'utilitza com a factor de referència. És una proteïna homodimèrica, produïda per una gran varietat de cèl·lules, com plaquetes, cèl·lules endotelials, limfòcits i macròfags. Es sintetitza com un precursor inactiu, que s'ha d'activar.

- b) **SMAD:** família de proteïnes que funcionen a nivell cel·lular com a segon missatger i actuen com a factors de transcripció regulant l'expressió de gens específics. Són homòlogues a les de la proteïna de la mosca *Drosophila*. En els mamífers hi ha 8 tipus d'Smad agrupades en tres subfamílies.
 - **Regulades pel receptor R-SMAD:** SMAD1, SMAD2, SMAD3, SMAD5, SMAD8.
 - **Smad mediadora comú (co-SMAD):** que inclou només l'SMAD4 i que interacciona amb l'R-SMAD.
 - **Smad antagonistes o inhibidores:** SMAD6 i SMAD7, que bloquegen l'activació de r-SMAD i Co-SMAD.
- c) **Altres lligands que formen part de la superfamília de lligands TGFβ:** proteïna morfogènica òssia (BMPs), factors de creixement i diferenciació (GDFs), hormona antimülleriana (AMH) i Nodal.
- d) **Proteïnes lligasa d'ubiquitina E3:** anomenades SMURF1 i SMURF2 per la seva nomenclatura en anglès: SMURF1 s'uneix a SMAD1 i SMAD5 i SMURF2 a SMAD1, SMAD3, SMAD6 i SMAD7. Regulen els nivells d'SMAD, així realcen l'acció inhibidora d'SMAD 6 i 7 i redueixen la transcripció de la resta. Així doncs, la seva funció és inhibidora sobre els diversos enzims de la família Smad.
- e) **Activina (ACV):** les activines són factors de creixement que pertanyen a la superfamília

de factor de creixement transformador-beta (TGF β). Contribueixen a la proliferació i diferenciació cel·lulars, l'apoptosi, la resposta immunològica i la cicatrització.

- f) **ACVR1**: proteïna transmembrana que actua com a receptor d'activina. El senyal d'activina es transmet a través d'un complex de quinases receptors que inclou almenys dos receptors tipus I (I i IB) i dos tipus II (II i IIB). Els receptors tipus I són essencials per a la senyalització; i els receptors tipus II es requereixen per formar lligands i per a l'expressió de receptors de tipus I.
- g) **Antagonista de l'ACVR1**: té un important paper en el càncer de pròstata.

2.4.2.2 Funcionament de la via TGF β

El funcionament de la via TGF β el podem veure a la **figura 2.6** i és el següent:

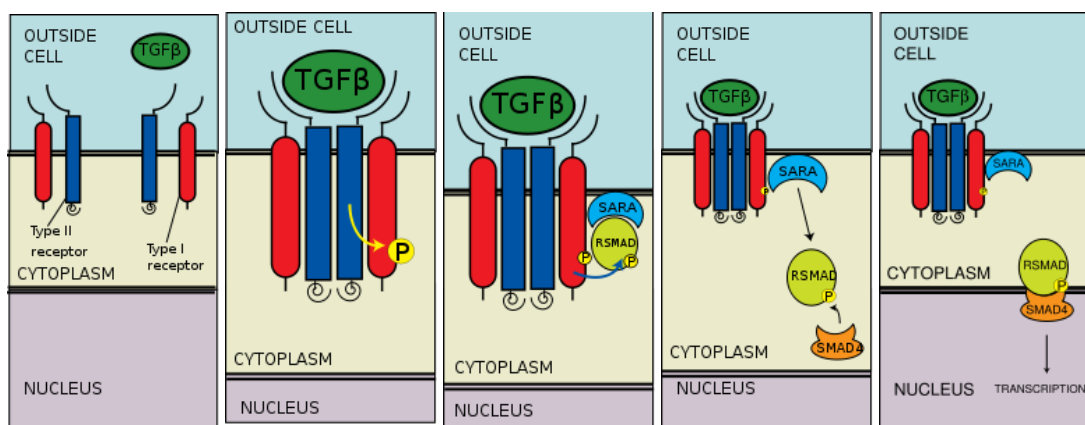


Figura 2.6 – Funcionament de la via de senyalització TGF β : **a)** unió del lligand TGF β al receptor; **b)** el receptor fosforila els residus de serina de la TGF β de manera que les proteïnes SARA queden exposades; **c)** SARA recluten un R-SMAD que és fosforilat i es dissocia; **d)** l'R-SMAD fosforilat té una alta afinitat pel co-SMAD amb el que forma un complex d'unió que entra al nucli; **e)** al nucli es produeix la transcripció d'ADN. **Font:** <https://en.wikipedia.org/wiki/TGFbetasignalingpathway>.

- La senyalització comença amb la unió d'un lligand de la superfamília de les TGF β a un receptor de TGF β -2, que, al seu torn, recluta un dímer del receptor tipus 1 formant un complex tetramèric.
- El receptor TGF β -2 fosforila els residus de serina del TGF β -1 (P) i es produeix la rotació dels receptors que fa que s'exposin les proteïnes SARA (ancatge de les Smad per a l'activació del receptor).
- Aquestes SARA recluten un R-SMAD i permeten la unió del receptor SMAD a la regió L45 del receptor TGF β 1. En aquesta conformació, el receptor TGF β -1 fosforila el residu serina del R-SMAD i li produeix un canvi de configuració, de manera que es dissocia del receptor SARA.
- L'R-SMAD fosforilat té una alta afinitat pel co-SMAD (per exemple SMAD4) amb el qual forma un complex d'unió, que entra al nucli.
- Al nucli, el complex R-SMAD/SMAD4 s'uneix a promotors de la transcripció i dona lloc a la transcripció d'ADN.

2.4.2.3 Alteracions genètiques de la via TGFβ i càncer

A la **figura 2.7** es poden veure quins són els càncers que presenten més freqüentment mutacions en els principals components de la via de senyalització TGFβ, segons la base de dades del *National Cancer Institute* [3] ordenats per ordre de freqüència.

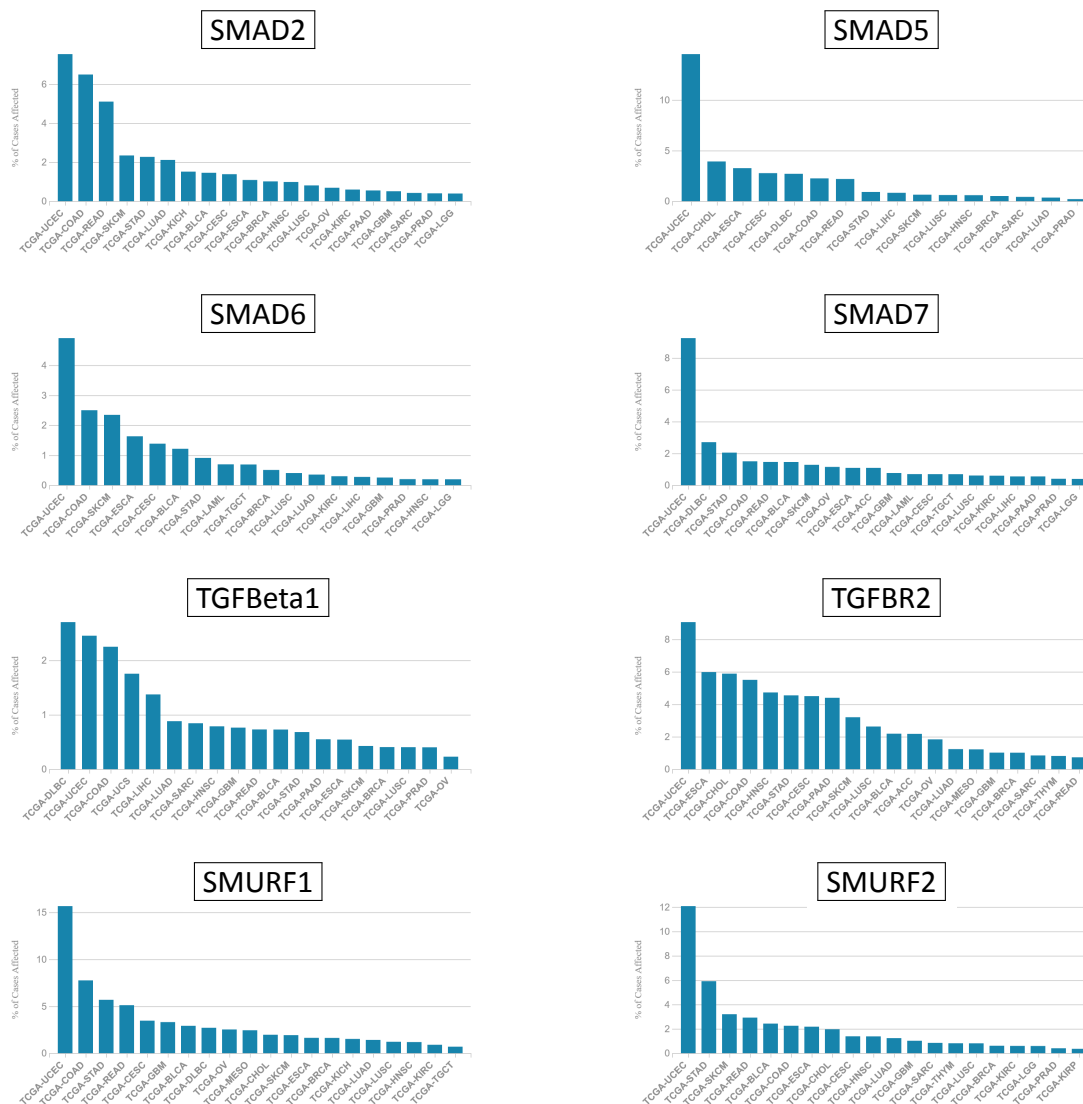


Figura 2.7 – Percentatge de mutacions en els principals components de la via TGFβ segons el tipus de càncer, ordenats de més a menys afectació. **Font:** base de dades americana del *National Cancer Institute* [3].

Veure la nomenclatura completa dels diferents tumors a la **taula 3.1**.

2.4.3 Via EGFR

Via oncogènica que és capaç de transmetre senyals la resposta dels quals pot ser de supervivència cel·lular, prevenció d'apoptosis o migració cel·lular. L'activació d'aquesta via comença amb la dimerització de la pròpia proteïna EGF, que provoca l'activació de tirosines quinases i la transfosforilació dels residus de tirosina del seu extrem C-Terminal. Els residus de tirosina

esmentats poden ser reconeguts per proteïnes que contenen dominis SH2 o PTB. Aquestes proteïnes poden ser adaptadores o factors directament transductors. De les proteïnes adaptadores, les més importants són la Grb2, la Grb7 i la Shc. Pel que fa als factors o enzims, els més destacats són les GAPs, PLCg, PLA2 i PI3K.

2.4.3.1 Components de la via EGFR i funcionament

- Grb2:** proteïna adaptadora responsable d'iniciar la ruta de les MAPKs, la més coneguda i estudiada. La funció principal d'aquesta proteïna és estimular el grup de proteïnes Ras.
- Ras:** família principal de proteïnes G monomèriques de la via i molt important en l'estudi de tumors provocats per la seva activació. Ras es pot trobar en dos estats depenent de l'activació de la via: RAS GTPasa (forma activa), quan el receptor de l'EGF activa el seu receptor; i Ras GDPasa (forma inactiva), quan la via es troba sense activació del receptor (**figura 2.8**).

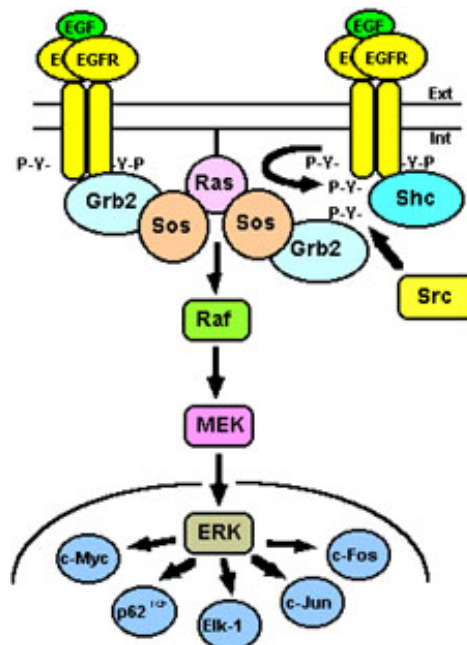


Figura 2.8 – Activació de la via Ras/MAPK que s'inicia pel complex Grb2/Sos, que és reclutat per l'EGFR fosforilat; el resultat final és la fosforilació de múltiples factors de transcripció del nucli.

Font: <https://canceres.info/?teoria> [Consultat 10/04/2018].

L'activació de Ras és deguda a l'estimulació d'intercanvis de nucleòtids que provoca el complex proteic Grb2/Sos, complex que es forma quan el domini SH2 de Grb2 interacciona amb els residus de fosfotirosina del receptor (EGFR) i el domini SH3 interacciona amb Sos1/2, un factor pertanyent a les GEFs (factors intercanviadors de nucleòtids de guanina). Ras és capaç d'interactuar amb les serina/tirosina quinases RAF-1, A-RAF i B-RAF (denominades MAPKKKs). Aquestes fosforilen les MEK1/2 (denominades MAPKKs) i finalment aquestes fosforilen les serina/tirosina quinases ERK1/2 (denominades MAPKs). A partir de les MAPKs es poden prendre molts camins diferents, ja que aquestes poden fosforilar diferents proteïnes dianes que bé poden activar altres vies de senyalització o translocar-se al nucli i fosforilar factors de transcripció com ara

c-Myc, c-Jun, c-Fos, Elk-1 i p62TCF, que provoquen l'activació o repressió d'alguns gens. Les mutacions d'aquesta família de proteïnes oncogèniques (KRAS, HRAS, NRAS) estan molt implicades en la formació de diferents tumors (**figura 2.9**).

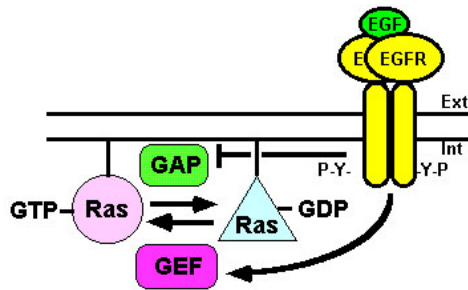


Figura 2.9 – Regulació del cicle de Ras per l'EGFR, facilitant la formació de la seva forma activa (Ras –cercle-GTP) mitjançant l'activació del factor intercanviador de nucleòtids de guanina (GEF) i segrestant GAP que la transformaria en la seva forma inactiva (RAS –triangle-GDP). **Font:** <https://cancerres.info/?teoria>.

- c) **Grb7**: proteïna que pertany a un grup diferent de proteïnes adaptadores que conté un domini SH2. Aquesta proteïna pot reconèixer EGFR i les fosfotirosines dels seus homòlegs: ErbB2 (molt freqüent en càncer de mama), ErbB3 i ErbB4, i de la proteïna Shc.
- d) **Shc**: aquesta proteïna té un paper molt important en el procés de la via, ja que és capaç de ser reclutada per l'EGFR a través del seu domini SH2, que es pot unir o als residus de fosfotirosina del receptor activat o pot ser fosforilat pel propi receptor o altres tirosines quinases auxiliars com Src, generant residus de tirosina fosforilats. Aquests residus poden servir com a punts d'ancoratge de proteïnes adaptadores com Grb2/Sos, que activa Ras i, en conseqüència, la via de les MAPks, o Grb7. Així doncs, els residus de fosfotirosina de Shc poden substituir els residus de fosfotirosina d'EGFR.
- e) **GAPs**: grup de proteïnes que pertanyen als factors o enzims que inactiven RAS. Són les responsables de tancar el cicle d'activació RAS iniciat pel grup de les GEFs. Les GAPs són responsables de l'increment de l'activitat GTPasa intrínseca en Ras, transformant RAS-GTP en RAS-GDP.
- f) **PLCg**: (**figura 2.10**) grup de factors o enzims transductors de la via EGFR. L'enzim s'activa a causa de la fosforilació del domini SH2 de les GAPs amb les fosfotirosines d'EGFR. Aquesta activació catalitza la hidròlisi del PIP2 i genera IP3 i DAG, segons missatgers que s'impliquen en l'activació de semblants de la PKC.
- g) **PLA2**: fosfolipasa fosforilada indirectament pels residus de serina, possiblement intervinguts per la PKC, a l'activar-se EGFR. Aquesta fosfolipasa participa en la generació de senyals de calci després de l'estimulació cel·lular per part d'EGF. Aquest procés s'inicia amb la hidròlisi de diferents fosfolípids de la membrana plasmàtica que alliberen aminoàcids, que a la vegada, és transformat per LC4, que obre canals de Ca²⁺.
- h) **PI3K**: grup pertanyent als factors o enzims que s'activen per ordre de l'EGF. El que ens interessa d'aquest grup és la seva subunitat adaptadora p85, la qual conté dominis SH2. No se sap del cert si aquesta proteïna és capaç de reconèixer els residus de tirosina de l'EGFR, encara que sí que sembla que reconeix els residus de l'homòloga ErbB3, per la qual cosa no es descarta que per heterodímers EGFR/ErbB3 o alguna proteïna adaptadora, la via PI3K pugui reaccionar a l'EGFR. Quan la p85 interacciona amb el receptor, la seva subunitat catalítica (p110) s'activa, fosforilant la posició del PIP2 i dóna com a producte el PIP3, que és un potent efector que s'uneix a proteïnes amb dominis PH, com la PKB/Akt. Aquesta última fosforila una multitud de proteïnes

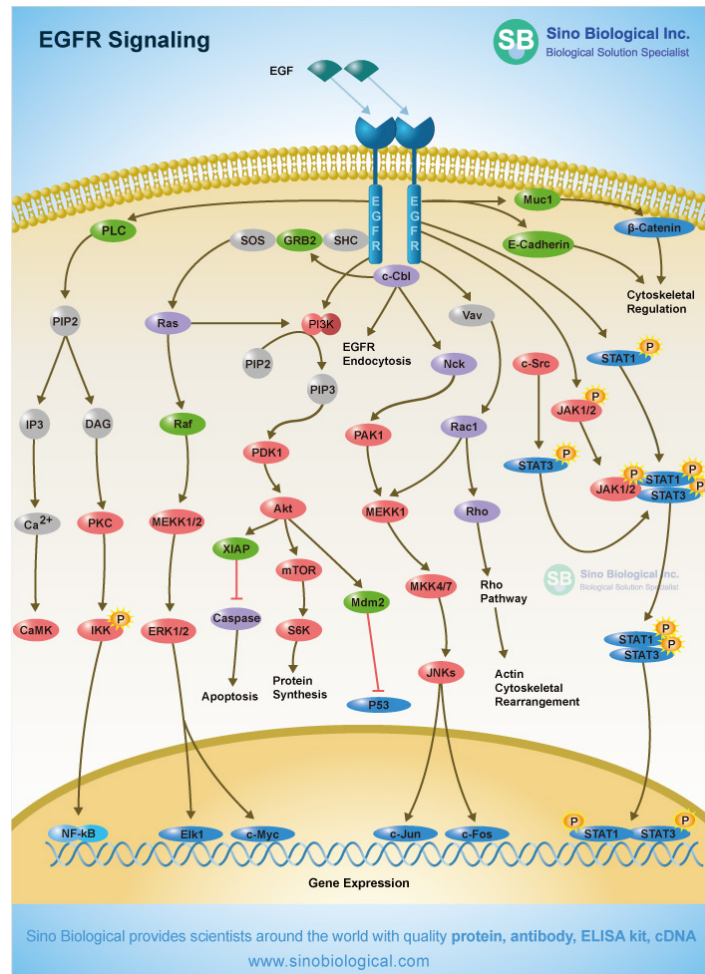


Figura 2.10 – Via de senyalització EGFR. **Font:** <https://www.sinobiological.com/egfr-signaling-pathway> [Consultat 10/04/2018].

capaces d'activar el senyal de supervivència cel·lular. L'activació de la PKB/Akt es pot deure també a la interacció directa de RAS amb PI3K.

- i) **JNK/SAPK (figura 2.10):** és un altre sistema de proteïnes per activar les MEKs. Aquest conjunt d'enzims i proteïnes és el que s'encarrega de la fosforilació del factor de transcripció de c-Jun. La ruta JNK/SAPK és intervinguda per Ras i PI3K. Quan EGFR s'activa, la proteïna Shc es fosforila i permet la unió Grb2/Sos, que activa Ras.
- j) **STATs:** proteïnes reguladores de transcripció que suposen un canvi quasi antagònic en la funció de EGFR. Aquestes proteïnes poden augmentar l'expressió de l'inhibidor del cicle cel·lular p21WAF1/CIP1 i de la proteasa Caspasa 1 (Casp1) que s'implica en l'apoptosi. Això significa que l'activació d'EGFR per la via regulada per les STATS provoca una parada cel·lular i fins i tot la inducció d'apoptosis en determinades cèl·lules tumorals.

2.4.3.2 Alteracions genètiques de la via EGFR i càncer

A la **figura 2.11** podem veure quins són els càncers que presenten més freqüentment mutacions en els principals components de la via de senyalització EGFR, segons la base de dades

del *National Cancer Institute* ordenats per ordre de freqüència.

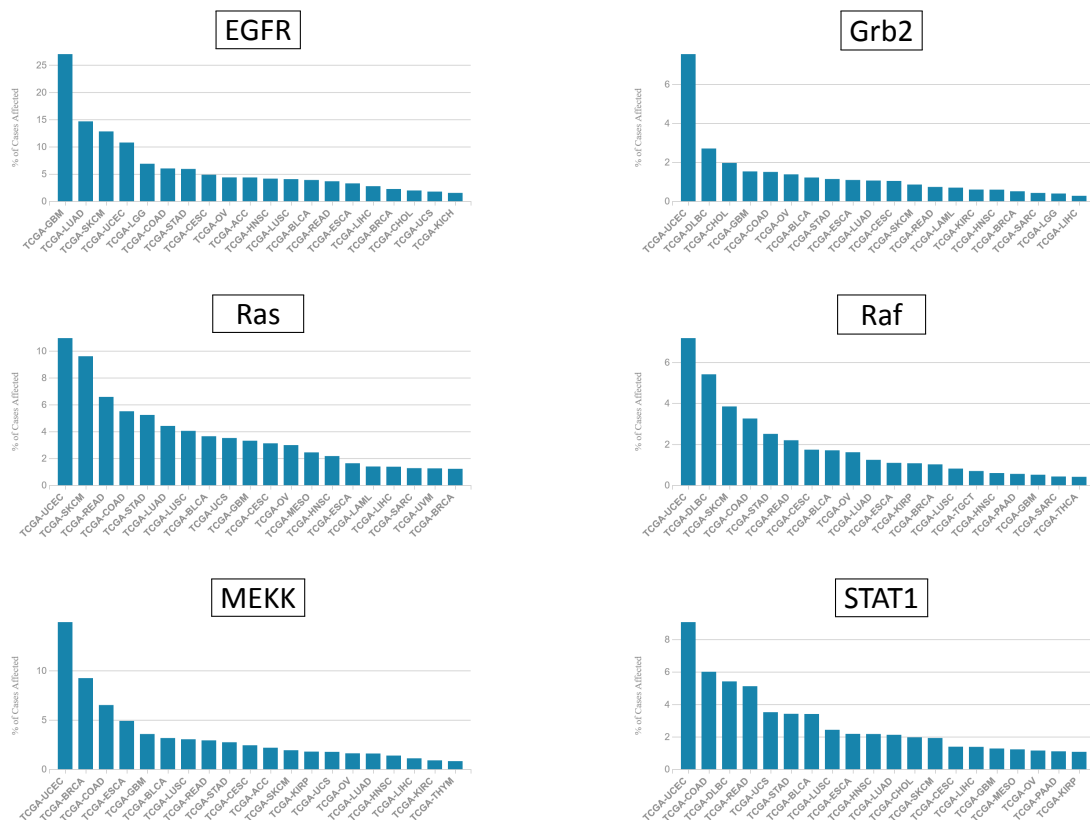


Figura 2.11 – Percentatge de mutacions en els principals components de la via EGFR segons el tipus de càncer, ordenats de més a menys afectació. **Font:** base de dades americana del *National Cancer Institute* [3].

Veure la nomenclatura completa dels diferents tumors a la **taula 3.1**.

2.4.4 Via p53

La via de senyalització p53 és un factor clau en la conservació de l'estabilitat del genoma ja que actua en la prevenció de mutacions causades per l'estrès cel·lular o el dany de l'ADN, per tant es considera un supressor tumoral. La proteïna p53 estableix el genoma interactuant amb vies de senyalització de la cèl·lula per regular una àmplia varietat de processos cel·lulars incloent l'apoptosi, la inhibició de l'angiogènesi, la senescència, la diferenciació cel·lular i la reparació i replicació de l'ADN. Mutacions en aquesta via s'associen amb inestabilitat genòmica i una major susceptibilitat al càncer i es creu que més de la meitat de tots els càncers poden involucrar mutacions que inactiven la via p53.

2.4.4.1 Components de la via p53

Són moltes les molècules que formen part de la via de senyalització p53; presentem les més importants a la **figura 2.12** [14]:

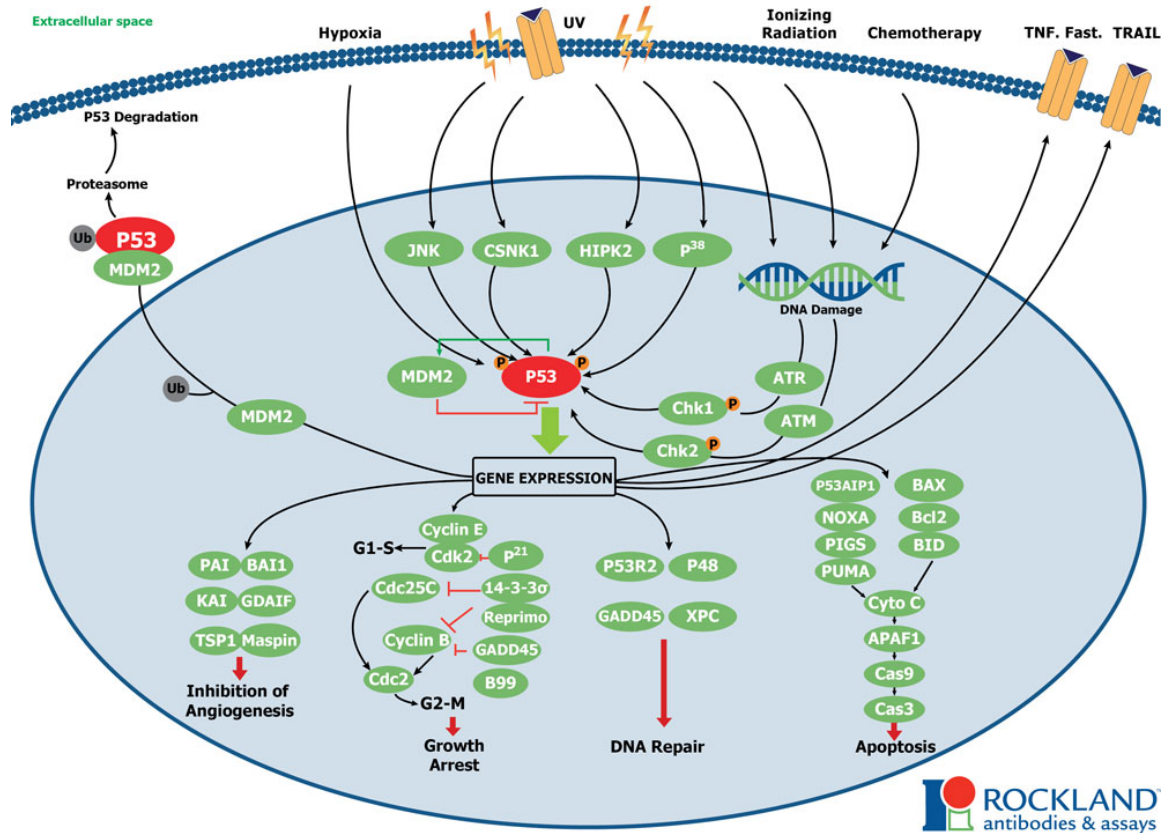
p53 Signaling

Figura 2.12 – Components de la via de senyalització p53 i les seves funcions. **Font:** <https://rockland-inc.com/p53-pathway.aspx>. [Consultat 10/04/2018].

- a) **p53**: és una proteïna supressora tumoral i conservadora de l'estabilitat del genoma, ja que actua regulant el cicle cel·lular. És codificada pel gen p53 (situat al braç curt del cromosoma 17), que resulta ser el gen alterat amb més freqüència en càncers humans. Com a agent anti-cancerós, aquesta proteïna pot activar-ne d'altres reparadores d'ADN en el cas que s'hagi danyat el material genètic, pot frenar el creixement de la cèl·lula i fer que aquesta s'aturi en el punt pre-mitòtic de regulació G1/S o fins i tot provocar l'apoptosi, si el dany resulta irreparable.
- b) **Mdm2**: és el factor regulador negatiu predominant de la p53 ja que s'encarrega de reprimir els nivells proteics de p53 a partir d'una degradació contínua d'aquesta.
- c) **ATM**: quinasa que s'encarrega d'inhibir la interacció p53-Mdm2 fosforilant i acetilant la mateixa Mdm2.
- d) **p21 (WAF1)**: quan la p53 està activada, s'enllaça amb l'ADN i activa l'expressió de diversos gens, entre ells el WAF1/CIP1 que codifica la proteïna p21. Aquesta, forma un complex molecular amb la CDK2 que no permet que la cèl·lula avanci al següent estadi de divisió cel·lular.
- e) **Cdk2 i S/Cdk complexes**: molècules importants per a la transició G1/S en el cicle cel·lular.
- f) **GADD45**: p53 intervé en processos de reparació de danys a través de la regulació de GADD45, una proteïna que s'uneix a PCNA i inhibeix la síntesi d'ADN.

2.4.4.2 Funcionament de la via p53

La proteïna p53 s'uneix a l'ADN en forma de tetràmer (**figura 2.13**), d'estructura quaternària. Una lesió de l'ADN estimula la síntesi de p53, la seva tetramerització i l'augment de la seva vida mitja al citoplasma. Quan la p53 s'uneix a l'ADN, s'estimula la síntesi de p21, que s'uneix als complexos Cdk2 i Cdk4, parant el cicle cel·lular a G1. Durant aquesta parada actuen els enzims que repararan la lesió de l'ADN i una vegada reparada la lesió, continuaran les fases de síntesi, G2 i mitosi.

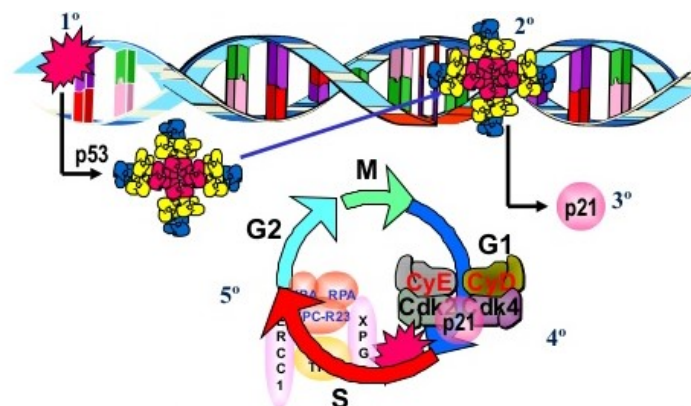


Figura 2.13 – 1) Estructura tridimensional de la proteïna p53 i la forma tetramèrica que s'uneix a l'ADN quan s'hi produeix un dany. 2) Síntesi de p21. 3) Parada del cicle cel·lular a G1. 4) Durant la parada del cicle cel·lular actuen els enzims de reparació. 5) Continuen les fases del cicle cel·lular. **Font:** Enrique Lastra Aras; *genética y cáncer*: <https://es.slideshare.net/jaaldi/genetica-y-cancer-16103448> [Consultat 10/04/2018].

Les mutacions en aquest gen porten a la síntesi d'una proteïna p53 que no pot unir-se de forma efectiva a l'ADN. Com a conseqüència, la proteïna p21 no es pot unir a la proteïna Cdk2 i això provoca que el senyal que posa en funcionament la divisió cel·lular no es pugui aturar i, per tant, que la cèl·lula es divideixi descontroladament (**figura 2.14**).

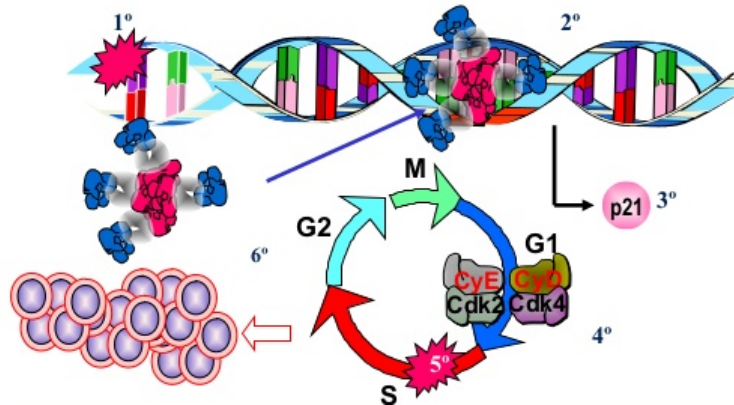


Figura 2.14 – 1) Hi ha dificultats en la tetramerització i la vida mitja de la proteïna en el citoplasma és molt curta. 2) No pot unir-se a l'ADN i per tant no hi ha síntesi de p21. 3) L'absència de p21 impedeix la parada del cicle cel·lular. 4) No hi ha reparació de l'ADN. 5) Els errors s'acumulen i propaguen en les fases de síntesis, G2 i mitosi. 6) Les mutacions poden conduir a la carcinogènesi. **Font:** Enrique Lastra Aras; genética y cáncer: <https://es.slideshare.net/jaaldi/gentica-y-cncer-16103448> [Consultat 10/04/2018].

2.4.4.3 Activació de la via p53

Els senyals o successos que porten a l'activació de la via estan principalment associats a situacions d'estrès cel·lular (dany de l'ADN, per exemple). Això provoca un ràpid increment en els nivells de proteïna p53, ja sigui per l'augment de l'estabilitat de la proteïna, com per la seva activació bioquímica a través de fosforilacions i acetilacions que permeten a la proteïna actuar com a factor de transcripció i unir-se a l'ADN (**figura 2.15**). [15].

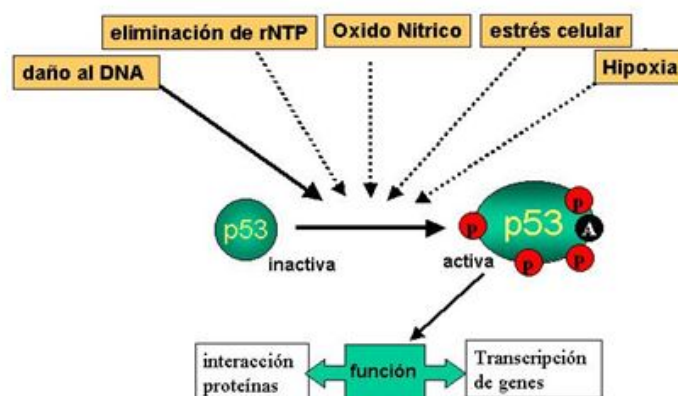


Figura 2.15 – Factors que estimulen l'activació de la p53 i el seu pas de proteïna inactiva a activa. **Font:** Augusto Silva; estructura, regulación y funciones del gen supresor de tumores p53. <https://www.uninet.edu/conganat/conferencias/C016/> [Consultat 10/04/2018].

2.4.4.4 Alteracions genètiques de la via p53 i càncer

A la **figura 2.16** podem veure quins són els càncers que presenten més freqüentment mutacions en els principals components de la via de senyalització p53, segons la base de dades del *National Cancer Institute* [3] ordenats per ordre de freqüència. El càncer d'úter també en aquesta via apareix per a molts dels seus components, com el que presenta el percentatge de mutacions més important, excepte per a la proteïna p53, on sorprenentment apareix com un dels últims en el percentatge de mutacions.

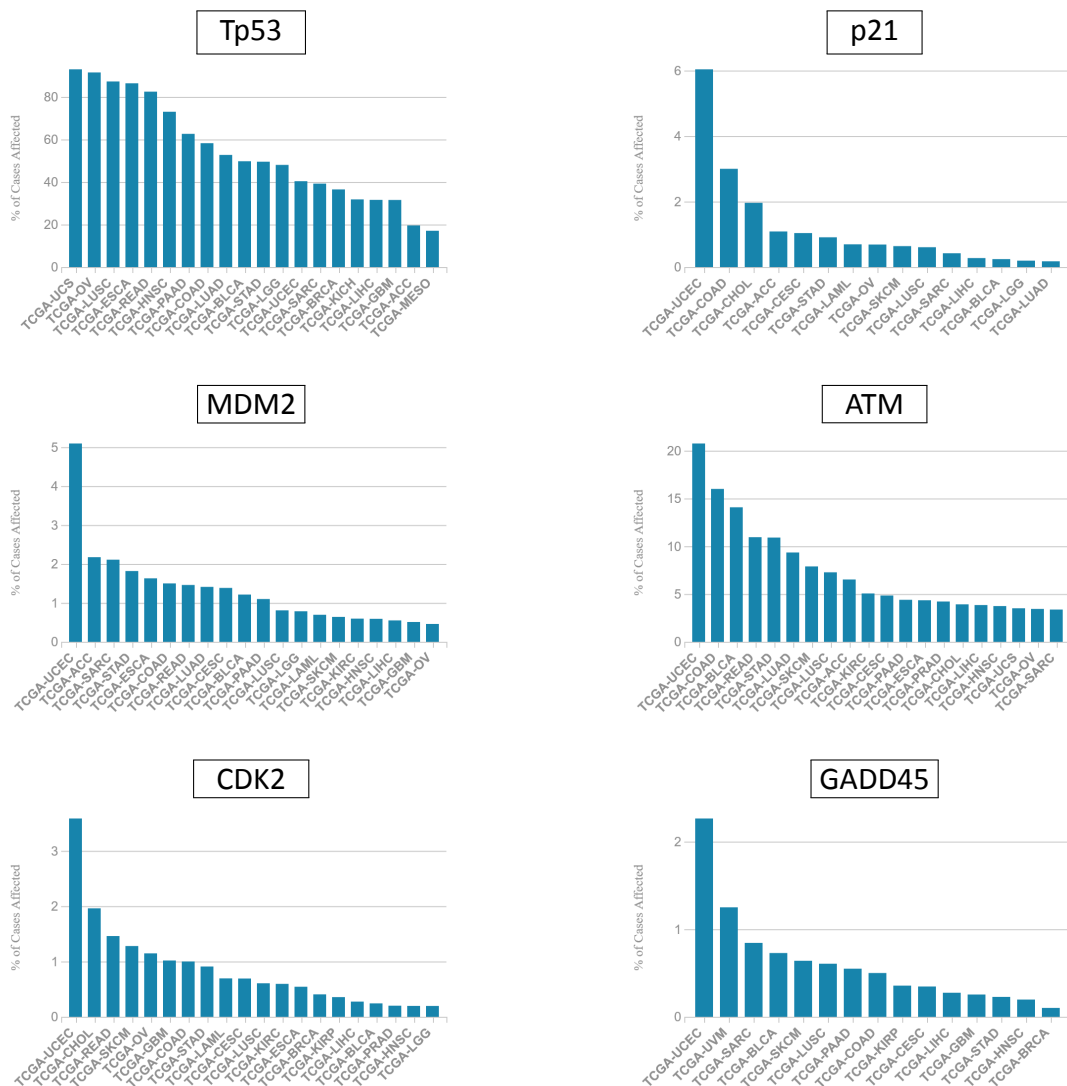


Figura 2.16 – Percentatge de mutacions en els principals components de la via p53 segons el tipus de càncer, ordenats de més a menys afectació. **Font:** base de dades americana del *National Cancer Institute* [3].

Veure la nomenclatura completa dels diferents tumors a la **taula 3.1**.

2.4.5 Via IFN γ

La via IFN γ o IFN-GAMMA forma part de les vies activades per infeccions, un grup de citocines que reben aquest nom perquè inhibeixen la replicació viral, entre d'altres coses. Aquesta

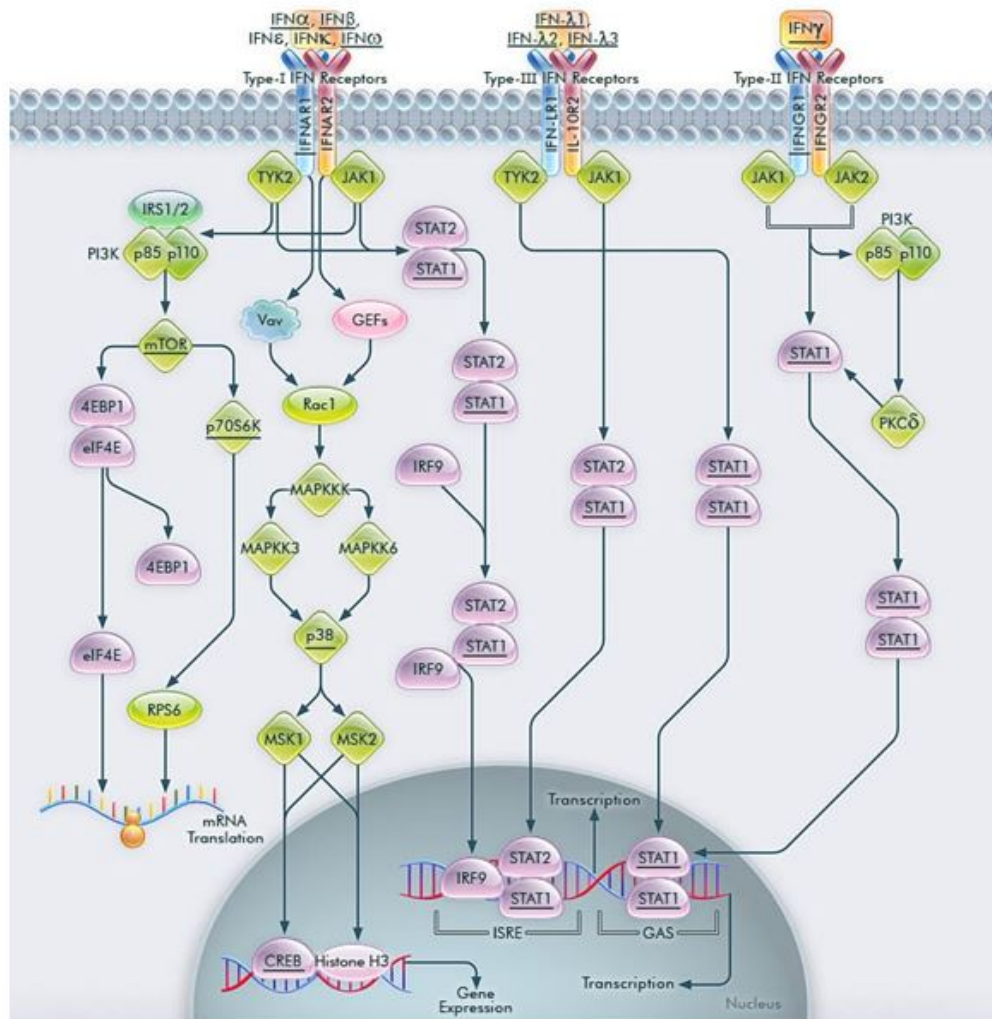


Figura 2.17 – Components de la via de senyalització interferó gamma. **Font:** <https://www.thermofisher.com/es/es/home/life-science/antibodies/antibodies-learning-center/antibodies-resource-library/cell-signaling-pathways/interferon-pathway.html> [Consultat 10/04/2018].

via s'encarrega de potenciar la transcripció de gens responsables d'activitats antivirals, immunomoduladores, antiploriferatives i antitumorals. També és responsable d'incrementar el desenvolupament i la diferenciació de les cèl·lules-T (limfòcits), així com induir-les a la producció de substàncies anti-antígens i a la fagocitació. Aquesta via es diferencia de les altres esmentades perquè no té rellevància en les cèl·lules de còlon ni de bufeta, sinó que afecta el comportament de les cèl·lules-T, provocant unes condicions més viables per a la proliferació i metastasi tumoral. IFN γ i TGF β tenen una relació important ja que l'expressió del gen IFN γ pot ser inhibida entre altres substàncies per TGF β . N'hi ha de dos tipus, la via canònica i la via no canònica. La seva única diferència recau en les proteïnes membres de la via entre la membrana cel·lular i el nucli, però segueixen compartint receptor i transcrivint els mateixos gens [16], [17].

2.4.5.1 Components de la via IFN γ

A la **figura 2.17** podem veure els diferents components de la via IFN γ , que són els següents:

- a) **IFN γ** : aquesta citocina forma part del segon grup dels tres que componen tota la família dels interferons. L'estructura i funció dels interferons de tipus II és diferent als de tipus I i els de tipus III. Aquest interferó és produït pels limfòcits T CD4+ i CD8+, entre d'altres cèl·lules de l'organisme. La seva estructura es compon de subunitats de 143 aminoàcids i un pes molecular de 17,1kDa. Aquest és l'activador de la via que s'uneix al complex que formen els receptors de la família dels interferons tipus II o els IFN-gamma receptor.
- b) **IFNGRs**: són dues les proteïnes que componen el receptor funcional d'IFN γ : IFNGR1 i IFNGR2. L'estructura del receptor està formada per dos IFNGR1 i dos IFNGR2. Cada receptor 1 està unit a un receptor 2 i aquests parells es situen a la membrana cel·lular en forma de V. IFNGR1 està format per una cadena de 90 kDa i també se'l denomina "cadena α ". IFNGR2 està format per una cadena de 60 kDa i també se'l denomina "cadena β " [16].
- c) **JAKs**: aquestes proteïnes amb activitat de tirosina quinasa es troben en un gran grup de vies diferents ja que, juntament amb les STATs, conformen una sèrie de xarxes que expressen gran nombre de gens i són activades per diferents tipus de receptors com són l'IFNGR1 i l'IFNGR2. Les JAKs són les úniques proteïnes del seu tipus capaces d'interactuar amb receptors de citocina, els quals es classifiquen en classe I i classe II, on hi ha la família d'IFNs. Les JAKs també són capaces d'activar els membres de la família de transductors i activadors de senyals de transcripció (STAT).

Hi ha 4 tipus de JAKs en mamífers: JAK1, JAK2, JAK3 i Tyk2. Aquest últim és essencial per a la senyalització dels receptors d'IFN [17].
- d) **STATs**: són un grup de 7 proteïnes d'uns 750-800 aminoàcids i una mida de 90-115kDa. Les STATs necessiten ser fosforilades per les JAK per ser activades. Aquestes compleixen la funció final de translocar-se al nucli i activar la transcripció d'alguns gens participants en la proliferació cel·lular, l'apoptosi, etc. Les proteïnes STAT formen juntament amb les JAKs una xarxa de molècules missatgeres entre els diferents receptors i diferents gens. Aquesta xarxa, coneguda com a via de senyalització JAK-STAT és responsable de processos tals com la immunitat, la divisió cel·lular, la mort cel·lular i la formació de tumors. De les 4 proteïnes JAK i les 7 proteïnes STAT, la via IFN γ interactua amb JAK1, JAK2 i STAT1. Aquestes proteïnes apareixen també a diferents vies com les vies d'interferons, la via EGFR i en general totes les vies activades per citoquines.
- e) **GAS**: GAS respon a les sigles *Gamma-interferon Activation Site* (lloc d'activació d'IFN γ) i són el conjunt de gens que s'activen per IFN γ .

2.4.5.2 Funcionament de la via IFN γ

- a) **Via activa (figura 2.18)**: quan la via no és activada per IFN γ , els receptors IFNGRs no s'associen. JAK1 es manté unit i estable amb IFN γ R1 i JAK2 es manté unit i estable a IFNGR2.
- b) **Via inactiva**: en el model canònic, la via s'activa quan IFN γ s'uneix al parell de IFNGR1. Aquesta unió en facilita una de segona entre les proteïnes IFNGR2 i el complex IFNGR1/IFN γ . Això provoca l'aproximació dels dominis intracel·lulars que estan units a JAK1 i JAK2 i provoquen també la seva aproximació. La unió entre els receptors provoca

la transfosforilació de les JAKs i la fosforilació d'una tirosina d'IFNGR1. Cada tirosina fosforilada d'IFNGR1 és reconeguda pel domini SH2 d'una STAT1, la qual s'uneix a ella. IFNGR1 associat amb STAT1 és fosforilat en tirosina i s'activa, formant homodímers d'STAT1 que es transloquen al nucli on s'uneixen a GAS [17], [18], [19].

En el model no canònic, IFN γ s'uneix al domini extracel·lular d'IFNGR1 i posteriorment aquest domini és mogut al citoplasma. Aquesta activitat augmenta l'afinitat de JAK2, provocant l'auto-activació de JAK1 i JAK2, la fosforilació del domini citoplasmàtic d'IFNGR1 i la posterior unió i fosforilació d'STAT1 a IFNGR1. Finalment, tot el complex (IFN γ R1/STAT/JAK1/JAK2) es transloca al nucli per a la transcripció gènica [18].

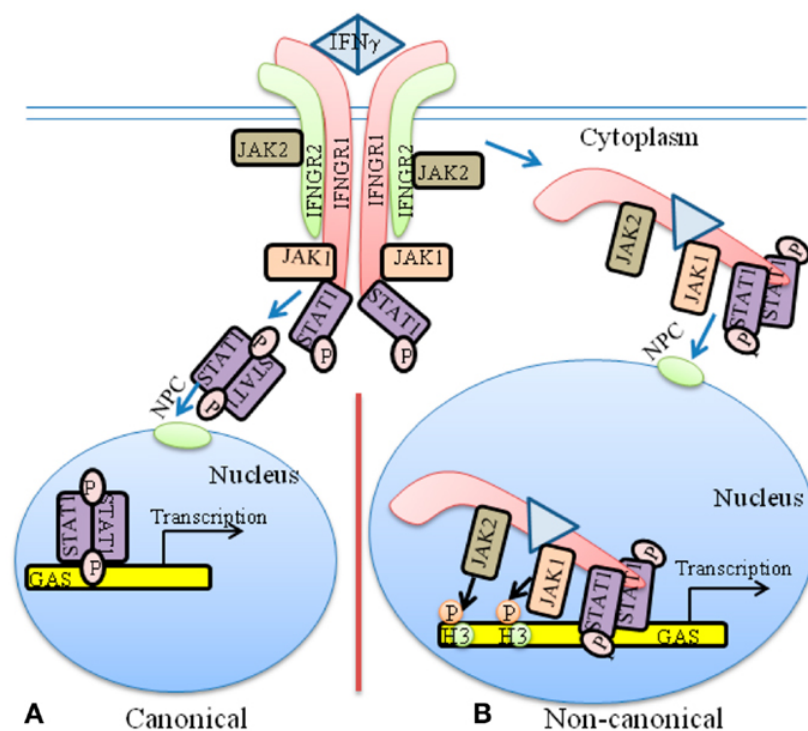


Figura 2.18 – Model canònic i no canònic de la via de senyalització IFN γ . Font: https://www.researchgate.net/figure/The-classical-and-non-canonical-models-of-IFNg-signaling-A-In-the-classical-model-of_fig1_253340101. [Consultat 10/04/2018].

2.4.5.3 Alteracions genètiques de la via IFN γ i càncer

A la **figura 2.19** podem veure quins són els càncers que més freqüentment presenten mutacions en els principals components de la via de senyalització IFN γ , segons la base de dades del *National Cancer Institute* [3] ordenats per ordre de freqüència.

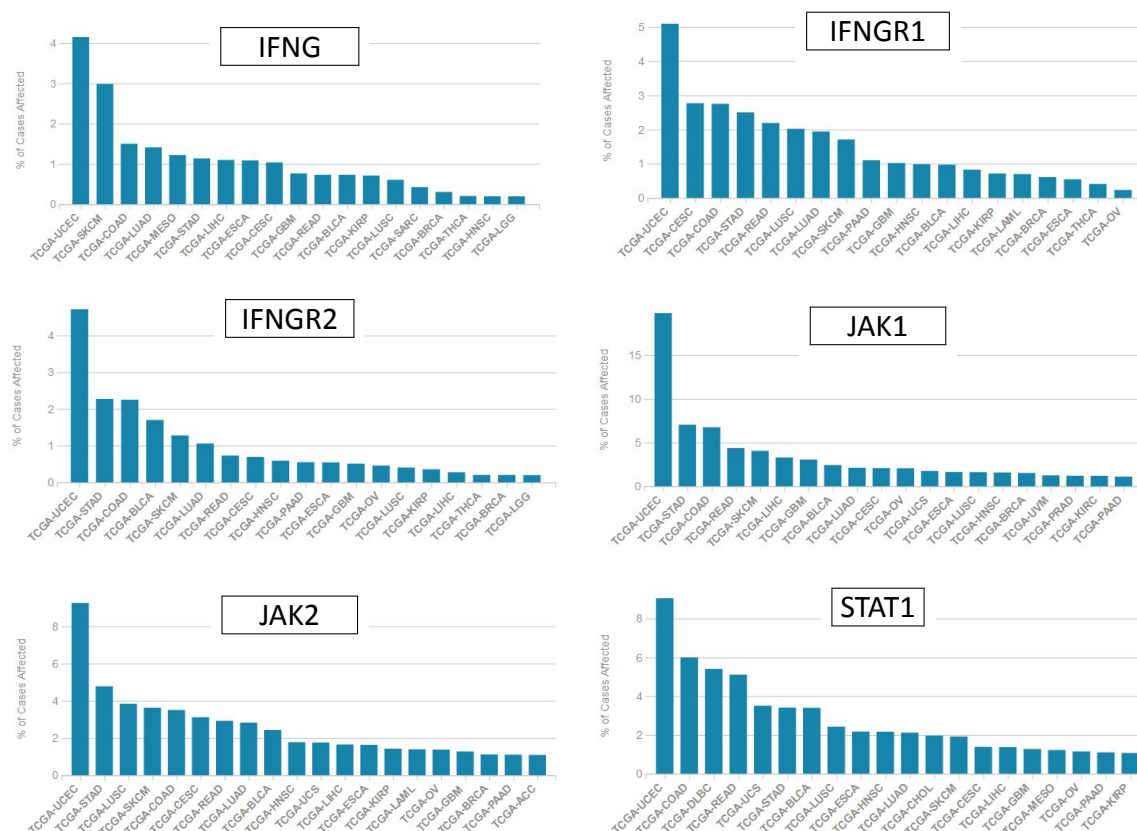


Figura 2.19 – Percentatge de mutacions en els principals components de la via $IFN\gamma$ segons el tipus de càncer, ordenats de més a menys afectació. **Font:** base de dades americana del National Cancer Institute (<https://portal.gdc.cancer.gov/>).

Veure la nomenclatura completa dels diferents tumors a la **taula 3.1**.

2.5 Medicaments

La teràpia convencional per al tractament del càncer comprèn la quimioteràpia, la radioteràpia i la cirurgia. Més recentment, els avenços tecnològics han permès el desenvolupament de medicaments específics que actuen directament sobre les cèl·lules tumorals. Tot i que la quantitat de pacients que sobreviuen al càncer ha experimentat increments significatius, encara som lluny de saber curar totes les seves varietats. Fa més d'un segle, una sèrie d'experiments van permetre posar de relleu el potencial d'aprofitar el sistema immunitari per combatre el càncer. Aquest sistema protegeix el cos dels agents invasors externs, reconeixent i distingint les proteïnes "no pròpies" (antígens) del teixit normal i saludable i iniciant una resposta protectora que permet neutralitzar aquests agents externs [20].

La immunoteràpia i en particular l'ús d'anticossos que augmenten la resposta immunitària als tumors, ha mostrat ser una promesa clínica en tumors sòlids avançats.

2.5.1 Galunisertib

El galunisertib (**figura 2.20**) és un medicament que s'administra per via oral. Es tracta d'una molècula petita antagonista de la tirosina quinasa que actua sobre els receptors de la proteïna

TGF β , controla que aquesta molècula no s'acumuli en el microambient del tumor i prevé l'activació de la seva via per tal que la cèl·lula no proliferi .

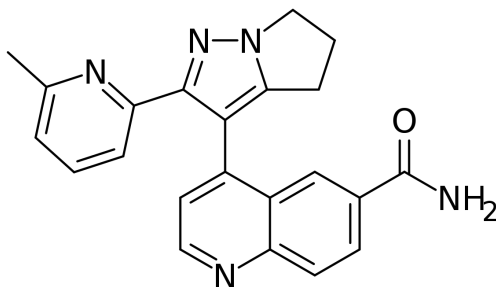


Figura 2.20 – Imatge bidimensional de Galunisertib. **Font:** <https://www.selleckchem.com/products/ly2157299.html> [Consultat 28/08/2018].

2.5.2 Anti-PD-L1

Certes proteïnes, com la PD-1 de les cèl·lules tumorals i la PD-L1 de les cèl·lules-T (cèl·lules de defensa del cos), ajuden a mantenir el control de les reaccions immunitàries. La unió de PD-L1 amb PD-1 impedeix que la cèl·lula-T destrueixi les cèl·lules tumorals del cos (**figura 2.21** imatge de l'esquerra). El bloqueig de la unió de PD-L1 a PD-1 amb un inhibidor de punts de control immunitari (anti-PD-L1 o anti-PD-1) permet que la cèl·lula-T destrueixi la cèl·lula tumoral (**figura 2.21** imatge de la dreta) [21].

Així doncs, l'anti-PD-L1 és un inhibidor de punts de control immunològics: és una molècula capaç de bloquejar el receptor PD-1 o els enllaços de PD-L1 i PD-L2 expressats en les cèl·lules cancerígenes. Impedir la unió d'aquests receptors permet que les cèl·lules-T continuïn actives contra el tumor i estimulin la resposta immunològica contra les cèl·lules tumorals.

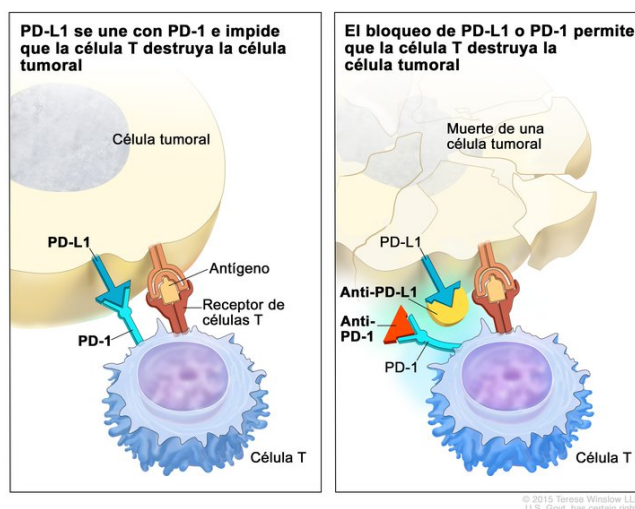


Figura 2.21 – Funcionament d'anti-PD-L1. **Font:** <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=10876> [Consultat 31/08/2018].

2.6 Tipus de càncers estudiats

En aquest treball tractem els càncers següents:

2.6.1 Càncer colorectal

2.6.1.1 Què és?

El càncer colorectal és una malaltia provocada per cèl·lules malignes que creixen sense control en el teixit de revestiment de l'intestí gros. Aquest forma l'última part de l'aparell digestiu i és on es troben el còlon i el recte (**figura 2.22**). El poden patir dones i homes per igual i, a tot el món, el càncer colorectal és el segon tipus més comú de càncer.



Figura 2.22 – Imatge del cec, còlon, recte i anus. **Font:** <https://www.cityofhope.org/blog/colorectal-cancer-myths-ask-the-experts> [Consultat 31/08/2018].

A Catalunya també és el segon tumor més incident en els dos sexes, per darrere del de pròstata en homes i del de mama en dones (**figura 2.23**) i és la segona causa de mort per càncer en els dos sexes (**figura 2.24**) [22].

Quasi tots els càncers de còlon comencen amb el creixement desmesurat de cèl·lules com a pòlips cancerosos, que al principi de la malaltia són benignes i amb el pas dels anys es malignitzen. Per entendre més detalladament l'aparició de càncer a les cèl·lules del còlon i el recte, vam necessitar l'explicació d'un expert. Aquesta és una part de l'entrevista al Dr. Cañellas:

Els càncers són diferents bàsicament perquè a cada òrgan tenim mutada una via de senyalització o una altra (...). En el cas del còlon, aquest té criptes i dilus, on hi ha les cèl·lules mare del còlon. El còlon és un teixit que constantment es regenera. Al còlon hi ha diferents senyals (...) a la superfície de la cèl·lula hi ha uns receptors i hi ha una sèrie de molècules que li indiquen si ha de créixer o no. A l'intestí hi ha un gradient de Wnt. El que fa Wnt és activar una via de senyalització per a la proliferació cel·lular. Les cèl·lules mare són les que reben aquesta senyalització i als llocs on arriba menys Wnt és on les cèl·lules es diferencien. És a dir, aquest factor és el que controla que una cèl·lula de còlon sigui diferenciada o sigui una

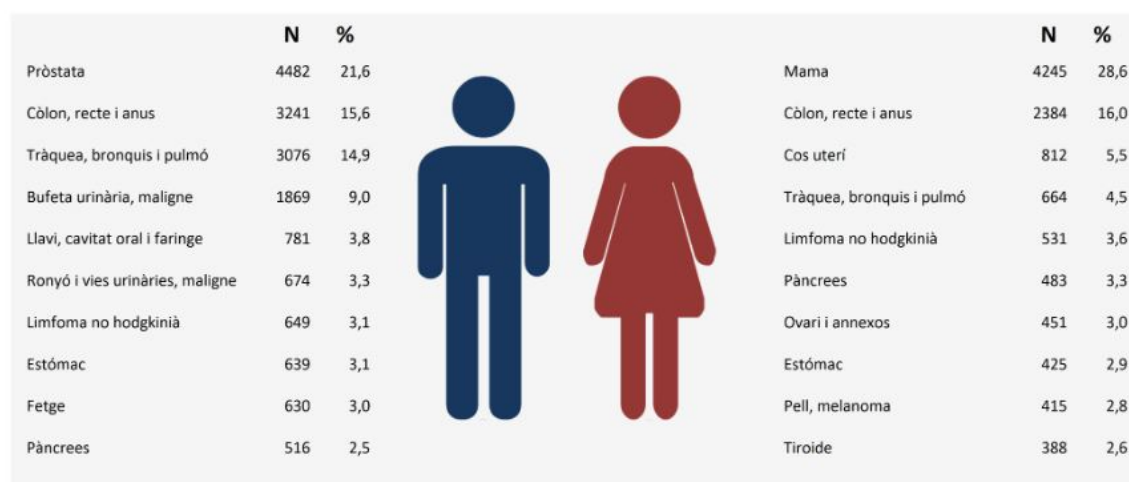


Figura 2.23 – Casos de càncer incidents anuals i freqüència relativa de les 10 localitzacions més freqüents a Catalunya. Període 2008 – 2012. **Font:** Registre del Càncer de Catalunya. 2016, Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [22].

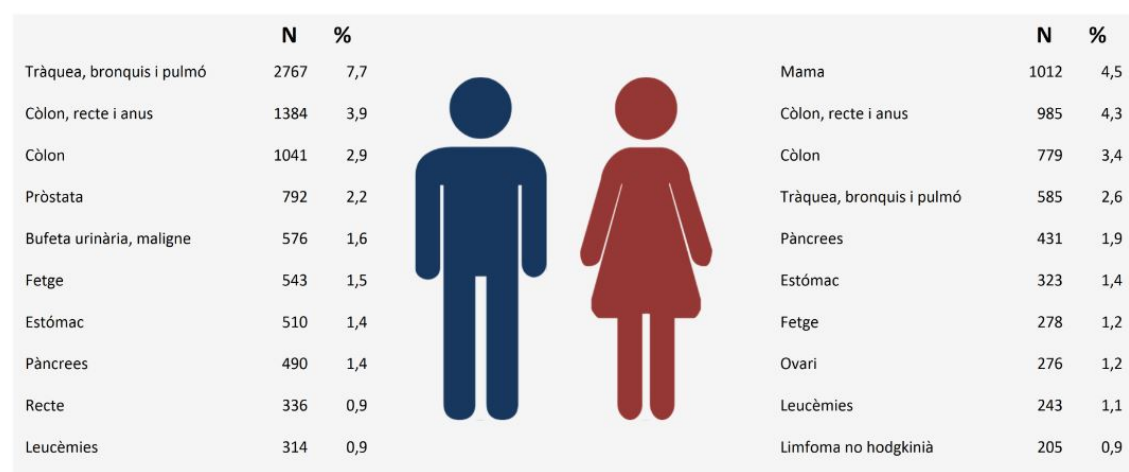


Figura 2.24 – Mortalitat per càncer anual i freqüència relativa de les 10 localitzacions més freqüents a Catalunya. **Font:** Registre del Càncer de Catalunya. 2016, Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [22].

cèl·lula mare. Què passa? Que un tumor, com més cèl·lules mare tingui, més capacitat tindrà per propagar-se i ser més agressiu. Per tant, el que fan els tumors és mutar APC, les cèl·lules perden aquest gen i aquesta proteïna que crea aquest complex (...) i la senyalització està constantment activa. Per tant, si en un tumor totes les seves cèl·lules perden aquest gen, hi haurà moltes més cèl·lules mare i un 90 per cent dels càncers de còlon tenen mutat aquest gen o aquesta via. Aquesta seria la mutació més important⁴.

Aquest càncer es relaciona amb diversos factors de risc, com són l'obesitat, la inactivitat física, l'elevat consum de carn vermella o processada i el tabac i amb els antecedents familiars de càncer de còlon, ja que hi ha mutacions que es poden transmetre de generació en generació. Com es veu a la **figura 2.25**, les principals mutacions que es troben en els pacients amb càncer colorectal, són en primer lloc APC, seguida de TP53, TTN i KRAS.

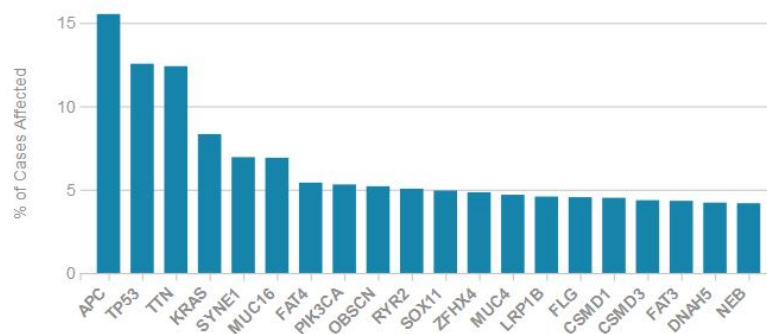


Figura 2.25 – Percentatge de mutacions segons el nombre de vegades que es troben en pacients amb càncer colorectal. **Font:** base de dades americana del National Cancer Institute (<https://portal.gdc.cancer.gov/>).

2.6.1.2 Com es tracta el càncer colorectal?

Segons el *NIH* [3], la cirurgia és el tractament principal per a aquesta malaltia, recomanada en estadis del 0 al III i és eficient aproximadament en el 50 per cent dels pacients. En alguns casos també s'utilitza la quimioteràpia com a primera opció (quimioteràpia neoadjuvant) i a vegades combinant-la amb la cirurgia (quimioteràpia adjuvant). A partir de l'estadi IV és més comú la teràpia dirigida i la quimioteràpia amb medicaments que en alguns casos són anticossos monoclonals com l'anti-PD-L1 utilitzat en els articles de *Nature* [1], [2].

A la **figura 2.26** mostrem un fragment de la monografia del Registre del Càncer de Catalunya que es va publicar l'any 2016. Aquestes dades en concret mostren la progressió en el nombre d'afectats i de defuncions produïdes pel càncer de còlon i recte. La informació que considerem més rellevant és la mínima disminució de defuncions des de l'any 1994. Que en tot aquest temps encara no s'hagi descobert una manera eficaç per reduir les xifres radicalment és un molt bon indicador de la necessitat d'investigar sobre possibles nous tractaments.

4. Veure entrevista completa als annexos

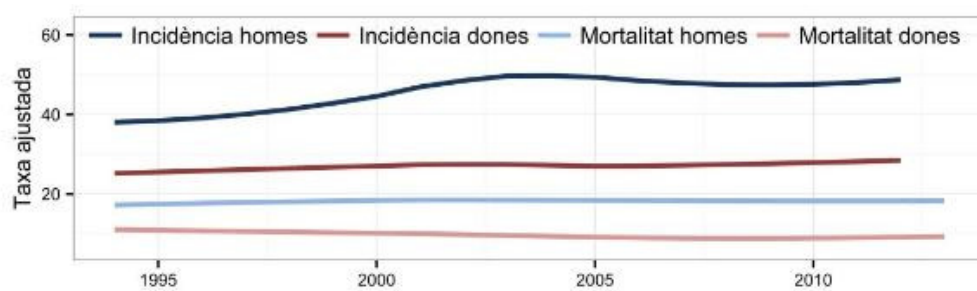


Figura 2.26 – Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer de còlon a Catalunya entre els anys 1994 i 2013.

Cada any es diagnostiquen i moren de càncer de còlon 87,2 i 37,2 homes de cada 100.000 respectivament, i 63,1 i 26,0 dones. Des de 1994, la incidència d'aquest tumor s'incrementa anualment un 1,3% en els homes i un 0,5% en les dones, mentre que la mortalitat disminueix un 1,2% anual en les dones i s'ha mantingut estable en els homes.

Font: Registre del Càncer de Catalunya. 2016, Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [22].

2.6.2 Càncer urotelial

2.6.2.1 Què és?

El càncer urotelial és aquell que es forma quan les cèl·lules de revestiment de la uretra, la bufeta, els urèters o la pelvis renal (**figura 2.27**) malignitzen i es divideixen sense control.

Els seus principals factors de risc són el tabac i diferents substàncies químiques que hi ha als colorants, les pintures, el cuir o el cautxú (hi ha un augment d'incidència important en els treballadors d'empreses que fabriquen o utilitzen aquests productes). Les mutacions que més l'afecten són les que es mostren a la **figura 2.28** i que principalment són TTN i Tp53. També hi ha una predisposició genètica a patir aquest tipus de tumor.

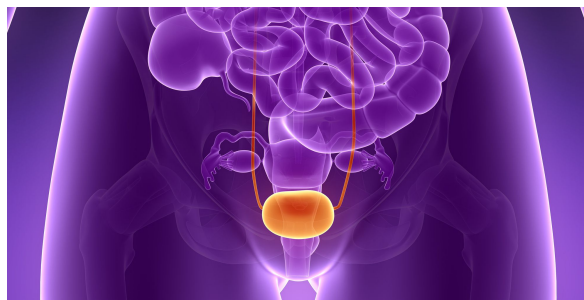


Figura 2.27 – Disposició anatòmica de la bufeta i els urèters. **Font:** <https://www.prevention.com/health/g20506369/5-symptoms-of-bladder-cancer-every-woman-should-know/>.

2.6.2.2 Com es tracta el càncer urotelial?

Actualment es recomanen quatre tipus de tractaments per a combatre el càncer de bufeta urinària segons l'estadi en el qual es trobi la malaltia: la cirurgia, la radioteràpia, la quimioteràpia i la immunoteràpia, en què s'inclou el tractament en el qual estem basant el nostre treball. Malauradament, la supervivència a llarg termini per a persones diagnosticades amb

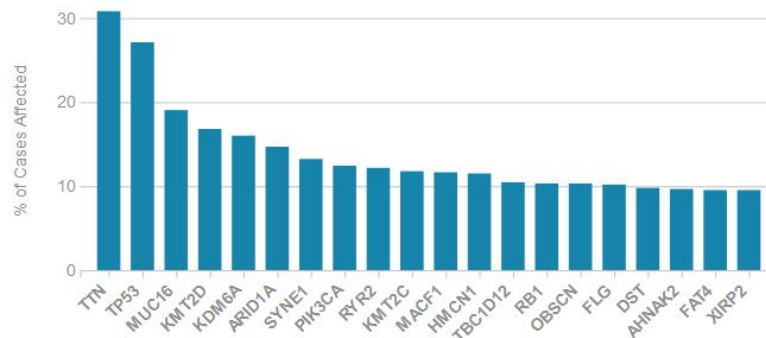


Figura 2.28 – Percentatge de mutacions segons el nombre de vegades que es troben en pacients amb càncer de bufeta urinària. **Font:** base de dades americana del National Cancer Institute (<https://portal.gdc.cancer.gov/>).

càncer avançat de bufeta (metastàtic) és baixa: aproximadament només el 5 per cent de pacients sobreviuen 5 anys o més (a la **figura 2.29** es pot veure la incidència i mortalitat d'aquest tumor a Catalunya [22]).

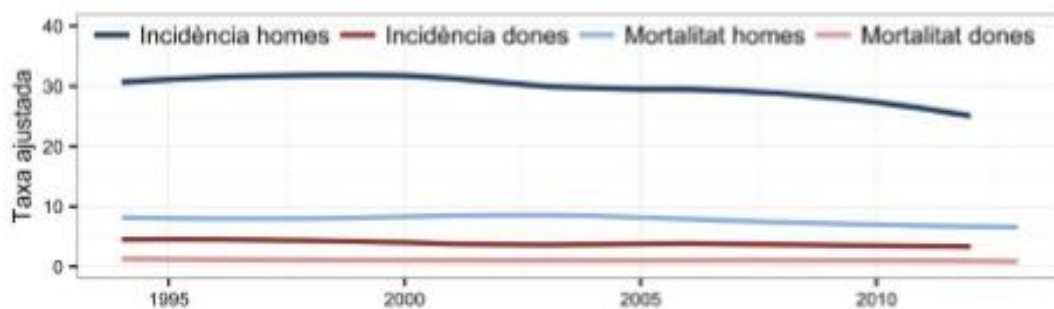


Figura 2.29 – Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer de bufeta a Catalunya entre els anys 1994 i 2013.

Cada any es diagnostiquen i moren per càncer de bufeta urinària 50,3 i 15,5 homes de cada 100.000 i 9,2 i 3,6 dones respectivament. Des de 1994, la incidència d'aquest tumor disminueix un 1,0% en els homes i un 1,8% en les dones, mentre que la mortalitat disminueix un 1% anual en els homes i un 1,3% anual en les dones.

Font: Registre del Càncer de Catalunya. 2016, Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [22].

Una dada a tenir en compte relacionada amb la immunoteràpia és que el 17 d'abril, la FDA (Administració d'Aliments i Medicaments dels Estats Units) va concedir l'aprovació accelerada a *atezolizumab* (Tecentriq®) com a teràpia de primera línia per a alguns pacients amb carcinoma urotelial metastàtic o localment avançat⁵. Justament aquest mateix medicament va ser utilitzat per realitzar l'article de l'equip americà [2] com a agent anti-PD-L1.

Com es pot veure a la **figura 2.29** de la monografia del Registre del Càncer de Catalunya [22] que es va publicar l'any 2016 i que fa referència a la progressió en el nombre d'afectats i de defuncions causades pel càncer urotelial de bufeta al nostre país, des del 1994 la disminució de les defuncions ha estat només d'un 1% anual en homes i d'un 1,3% en dones. És igual de

5. <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2017/aprobaciones-fda-puntodecontrol-vejiga> - FDA aprueba fármacos de inmunoterapia para pacientes con cáncer de vejiga

preocupant que amb el càncer colorectal que en tot aquest temps encara no s'hagi descobert una manera eficaç per reduir radicalment les xifres de defuncions.

2.6.3 Càncer d'úter

2.6.3.1 Què és?

Hi ha dos tipus de càncers d'úter: el càncer d'endometri (comú) i el sarcoma uterí (poc comú i que afecta el miometri o capa muscular de l'úter). En el nostre treball ens centrem en el d'endometri, que consisteix en el creixement de cèl·lules malignes en la paret de recobriment de l'úter (**figura 2.30**).



Figura 2.30 – Imatge on s'aprecia l'úter en la seva disposició anatòmica. **Font:** <https://medline-plus.gov/spanish/uterinediseases.html>.

Als Estats Units representa el 6% de tots els càncers en dones⁶ i a Catalunya el 5,5% [22]. La seva incidència ha disminuït lleument en els últims anys a Catalunya però encara representa el tercer tumor més incident en les dones catalanes, després dels de mama i còlon (**figura 2.23**).

Els factors de risc per patir un càncer d'úter són també el tabac, l'obesitat, la predisposició genètica i els tractaments hormonals orals perllongats (per exemple per al tractament dels símptomes associats a la menopausa). Els gens més comunament mutats en les dones amb càncer d'úter són, com es veu a la **figura 2.31**: PTEN, PIK3CA, TTN i TP53.

2.6.3.2 Com es tracta el càncer d'úter?

Mentre que el sarcoma uterí sol ser més maligne i més difícil de tractar, el càncer d'endometri té millor pronòstic. Avui en dia s'utilitzen cinc tipus de tractament per combatre'l: cirurgia, radioteràpia, quimioteràpia, teràpia amb hormones i teràpia dirigida, tot i que també les pacients poden explorar altres vies de tractament en assajos clínics.

La majoria dels casos es diagnostiquen en estadi primerenc i són susceptibles al tractament de cirurgia sola.

6. Dades extretes de: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/uterino/pro/tratamiento-endometrio-pdq>

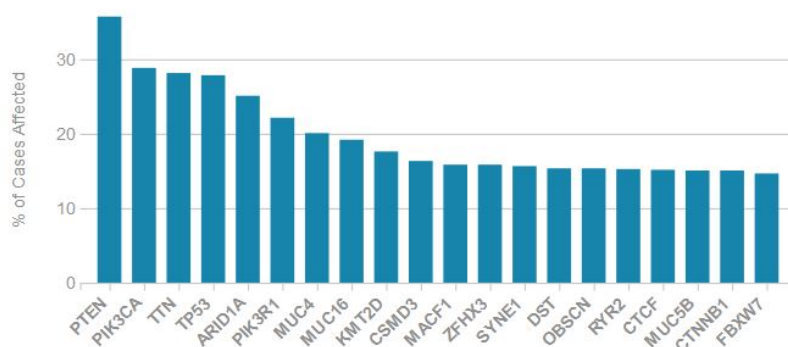


Figura 2.31 – Percentatge de mutacions segons el nombre de vegades que es troben en pacients amb càncer d'úter. **Font:** base de dades americana del National Cancer Institute [3].

A la **figura 2.32** es poden veure novament les dades de la monografia del Registre del Càncer de Catalunya [22] que mostren la progressió en el nombre d'afectades i de defuncions produïdes pel càncer uterí.

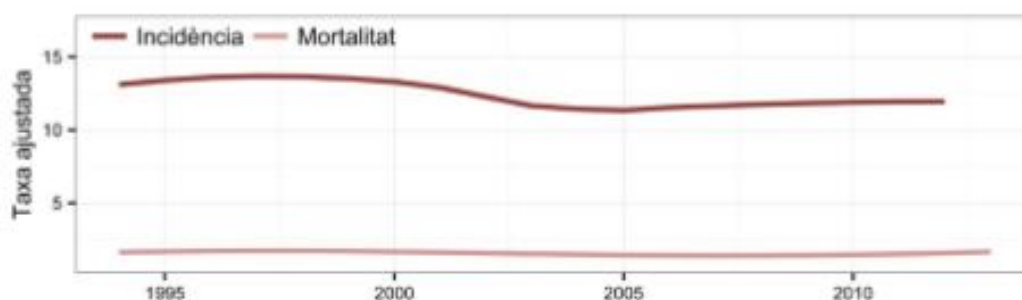


Figura 2.32 – Taxa ajustada d'incidència i mortalitat del càncer de cos uterí a Catalunya entre els anys 1994 i 2013.

Cada any es diagnostiquen i moren 21,5 i 3,9 dones de cada 100.000 respectivament. Des de 1994, la incidència d'aquest tumor ha disminuït un 1,0% mentre que la mortalitat disminueix un 0,9% anual.

Font: Registre del Càncer de Catalunya. 2016, Pla Director d'Oncologia de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [22].

En aquest cas també, aquestes dades mostren la necessitat de provar nous tractaments per frenar el ritme anual de defuncions que només ha disminuït un 0,9 per cent des de l'any 1994, especialment quan la malaltia està avançada. Precisament la immunoteràpia és una de les noves vies d'investigació que s'estan explorant mundialment i la més prometedora.

Capítol 3

Treball de camp

Aquest estudi ens ha enfrontat a la necessitat de controlar una gran quantitat de variables ja que, com hem vist, hi ha diverses vies i moltes possibles mutacions en les proteïnes de cada una de les vies. En concret, el treball s'ha focalitzat en les quatre vies de senyalització escollides per l'equip d'investigació de l'IRB per estudiar el CCR i en les dues vies escollides per l'altre equip d'investigació d'EUA per estudiar BLCA. Prenent com a base aquestes investigacions, s'ha intentat trobar altres tumors prou semblants com per proposar una estratègia similar en el seu tractament.

La clau d'aquest treball radica en el disseny d'una metodologia per trobar aquestes semblances d'una forma sistemàtica mitjançant un model que permeti mesurar com de propers o llunyans estan dos càncers segons les mutacions que presenten les proteïnes que intervenen en les vies de les seves cèl·lules.

Sense recórrer a coneixements matemàtics que ultrapassin els dels autors, s'ha buscat una forma senzilla de mesurar la similitud o la llunyania entre dos càncers recorrent al concepte distància, de forma que es considera cada càncer com un vector que té unes components determinades per a cadascuna de les mutacions associades. Una vegada triada l'expressió matemàtica de la distància, es podrà veure quins càncers estan propers envers les mutacions que els causen i quins no.

Atès que aquests vectors poden tenir n components, podem recórrer al concepte de norma vectorial i definir la distància com a la norma de la diferència entre dos vectors:

$$d = ||v_i - v_j||$$

on v_i i v_j són vectors que caracteritzen el càncer i -èsim i el càncer j -èsim, cadascun amb n components, un per mutació estudiada (APC1, KRAS, TGFBR2, TP53). El valor de cada component és el percentatge de casos recollits en la base de dades americana en què s'ha detectat la mutació.

En aquest estudi s'ha buscat mesurar aquestes distàncies entre càncers fent variar el nombre de components n que caracteritzen els vectors i buscant aconseguir trobar aquelles mutacions -components- més rellevants en el desenvolupament del càncer.

D'entre totes les definicions de normes possibles s'ha aplicat la norma euclidiana per ser una de les més intuïtives. Per tant, la distància entre dos càncers s'ha definit com l'arrel quadrada

de la suma dels quadrats dels components del vector diferència entre el càncer «i» i el «j»:

$$d = \sqrt{(v_{i1} - v_{j1})^2 + \dots + (v_{in} - v_{jn})^2}$$

Per tal d'estructurar la informació de les distàncies s'ha dissenyat una estructura matricial en la qual les capçaleres de les files (*i*) i columnes (*j*) són els 31 càncers estudiats. L'element *ij* representa la distància entre el càncer *i* i el càncer *j* calculada segons la definició anterior. La diagonal de la matriu surt a zeros perquè correspon a la distància entre un càncer i ell mateix, que òbviament és nul·la. És suficient calcular el triangle superior de distàncies perquè la distància entre els càncers *ij* i els *ji* és la mateixa.

Hem aplicat un format condicional de l'Excel consistent en una escala de colors sobre els elements de la matriu perquè sigui encara més visual: a la gràfica superior, la de distàncies, com més càlid (vermell), més proper i com més fred (verd), més llunyà; així mateix com més fosc, més extremada és la distància: el mòdul d'un càncer amb unes característiques molt similars amb aquelles amb les quals és comparat, en el gràfic apareix com a vermell fosc i el resultant d'una comparació poc similar com a verd fosc.

Una vegada obtingudes i visualitzades les distàncies entre els tumors, hem calculat el seus valors inversos perquè posteriorment en representar els resultats les representacions de l'invers de la distància són molt més visuals (el càncer que té una semblança més gran queda amb la barra més alta, que és com estem més acostumats a interpretar les relacions superiors).

Finalment, per aplicar la norma matemàtica a la nostra hipòtesi i poder saber quins tumors són els que s'assemblen més al CCR respecte a les mutacions estudiades, hem fixat aquest tumor i l'hem comparat amb la resta i després hem fet el mateix amb BLCA. Per poder fer visuals les dades, hem emprat la representació gràfica en format de barres de l'Excel.

En aquesta part del treball, per buscar els percentatges de mutacions de cada un dels càncers hem utilitzat la informació publicada a la base de dades americana del *National Cancer Institute*¹.

Hem treballat amb els 31 càncers més freqüents i hem utilitzat les abreviatures que habitualment es fan servir en la literatura científica per fer-ne referència. Aquestes abreviatures s'especifiquen a la **taula 3.1**, elaborada pels autors:

1. Veure explicació a l'apartat de bases de dades a metodologia.

Tumor	Nomenclatura
Adrenocortical Carcinoma	ACC
Bladder Urothelial Carcinoma	BLCA
Breast Invasive Carcinoma	BRCA
Cervical Squamous Cell Carcinoma and Endocervical Adenocarcinoma	CESC
Colangiocarcinoma	CHOL
Colon Adenocarcinoma	COAD
Lymphoid Neoplasm Diffuse Large B-cell Lymphoma	DLBC
Esophageal Carcinoma	ESCA
Glioblastoma Multiforme	GBM
Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	HNSC
Kidney Renal Clear Cell Carcinoma	KIRC
Kidney Renal Papillary Cell Carcinoma	KIRP
Acute Myeloid Leukemia	LAML
Brain Lower Grade Glioma	LGG
Liver Hepatocellular Carcinoma	LIHC
Lung Adenocarcinoma	LUAD
Lung Squamous Cell Carcinoma	LUSC
Mesothelioma	MESO
Ovarian Serous Cystadenocarcinoma	OV
Pancreatic Adenocarcinoma	PAAD
Pheochromocytoma and Paraganglioma	PCPG
Prostate Adenocarcinoma	PRAD
Rectum Adenocarcinoma	READ
Sarcoma	SARC
Skin Cutaneous Melanoma	SKCM
Stomach Adenocarcinoma	STAD
Testicular Germ Cell Tumors	TGCT
Thyroid Carcinoma	THCA
Uterine Corpus Endometrial Carcinoma	UCEC
Uterine Carcinoma	UCS
Uveal Melanoma	UVM

Taula 3.1 – *Nomenclatura internacional dels principals tumors estudiats i les seves abreviatures.*

Capítol 4

Resultats i discussió

S'ha aplicat la norma matemàtica en diverses situacions i amb diferents combinacions. En primer lloc, per la seva importància, l'hem aplicat per determinar la distància entre els diferents càncers segons les quatre mutacions utilitzades a l'article de Batlle *et al.* [1]. En segon lloc, hem fet el mateix amb les mutacions de l'article de Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2], que igual que en el primer estudi, utilitzaven un agent anti-TGF β + un anti-PD-L1 per tractar un càncer metastàtic, en aquest cas de bufeta. Finalment, hem estudiat les quatre vies de senyalització (Wnt, EGFR, p53 i TGF β), amb cada un dels seus components i hem comprovat quins són els components més rellevants segons els que s'utilitzaven en l'estudi de Batlle *et al.* [1] (Apc, Kras, Tgfbr2 i Trp53) i quins càncers són els que més freqüentment tenen afectades aquestes vies.

4.1 Estudi matemàtic de les mutacions AKTP

Com que aquesta és la part principal del treball, hem analitzat totes les possibilitats. En primer lloc, hem utilitzat les quatre mutacions treballades en l'estudi de Batlle *et al.* [1], totes a la vegada i comprovant quin dels 31 càncers estudiats és el que més s'assembla al colorectal. En segon lloc, hem analitzat les mutacions en agrupacions de tres, de dos i individualment seguint de més a menys la probabilitat de metastasi que presentaven els investigadors de l'IRB, que és la següent:

AKTP > AKT > ATP > AT > AKP > AK > AP

on els tumors que presentaven les quatre mutacions eren els que metastatitzaven més freqüentment. Com es pot comprovar, la metastatització dels tumors es veu molt condicionada per la presència de la mutació *Tgfbr2* (T). Hem exclòs el controlador *Lgr5* del nostre estudi perquè en comparar semblances entre càncers, el controlador només augmentaria proporcionalment la distància entre tots ells essent inútil per a l'estudi ja que les mutacions d'aquest controlador no són rellevants per al càncer de còlon. Els resultats obtinguts es poden veure en les següents figures (de la **figura 4.1** a la **figura 4.12**):

Mutacions APC1+KRAS+TGFB2

Representació gràfica de la distància entre els 331 tumors estudiats valorant en aquest cas, 3 mutacions alhora: *Apcl*, *Kras* i *Tgfbr2* (AKT). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

Les dades mostren que, analitzades aquestes 3 mutacions alhora (Apc1, Kras i Tgfr2), el tumor més similar al CCR és el de recte (READ) i en segon lloc el càncer d'úter (UCEC).

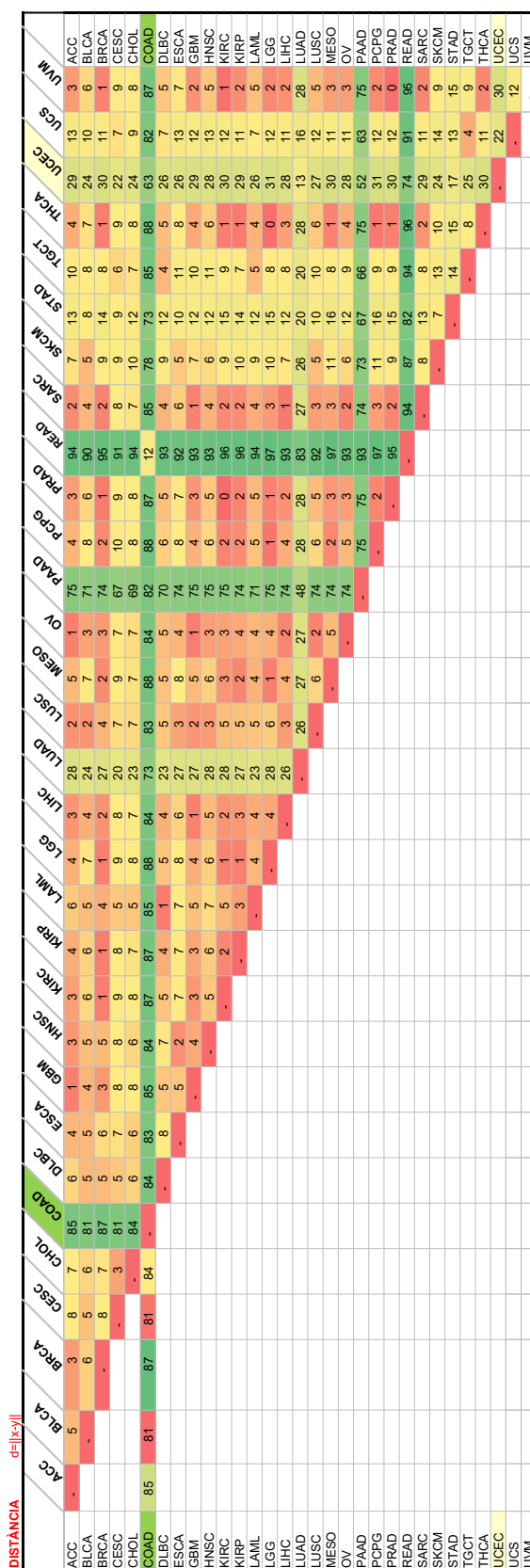
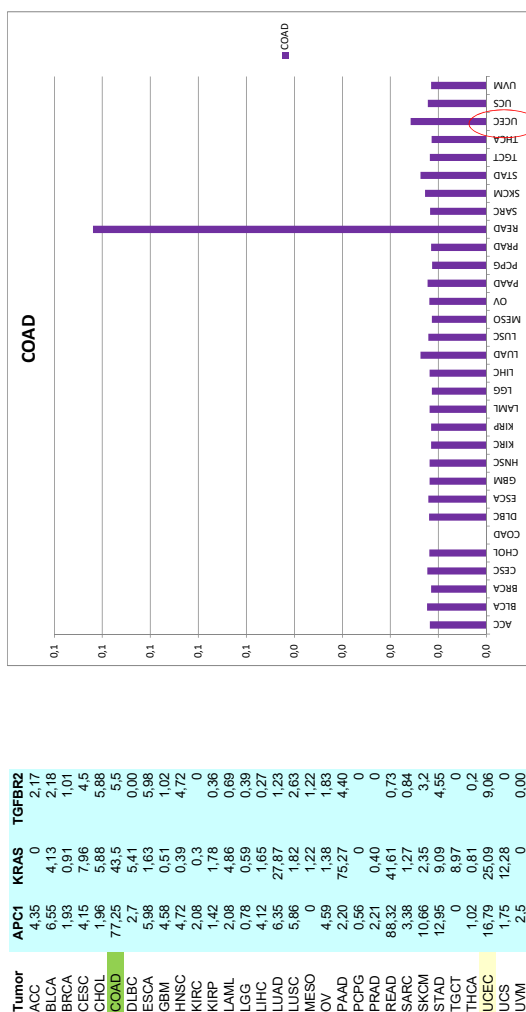


Figura 4.2 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 3 mutacions alhora: *Apc1*, *Kras* i *Tgfb β 2* (AKT).

Mutacions APC1+TGFB2+TP53

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 3 mutacions alhora: Apc1, Tgfb2 i Trp53 (ATP). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

Les dades mostren que, analitzades aquestes 3 mutacions alhora (Apc, Tgfb2 i Trp53), el tumor més similar al CCR és READ i en segon lloc també UCEC, seguit a molt poca distància d'STAD.

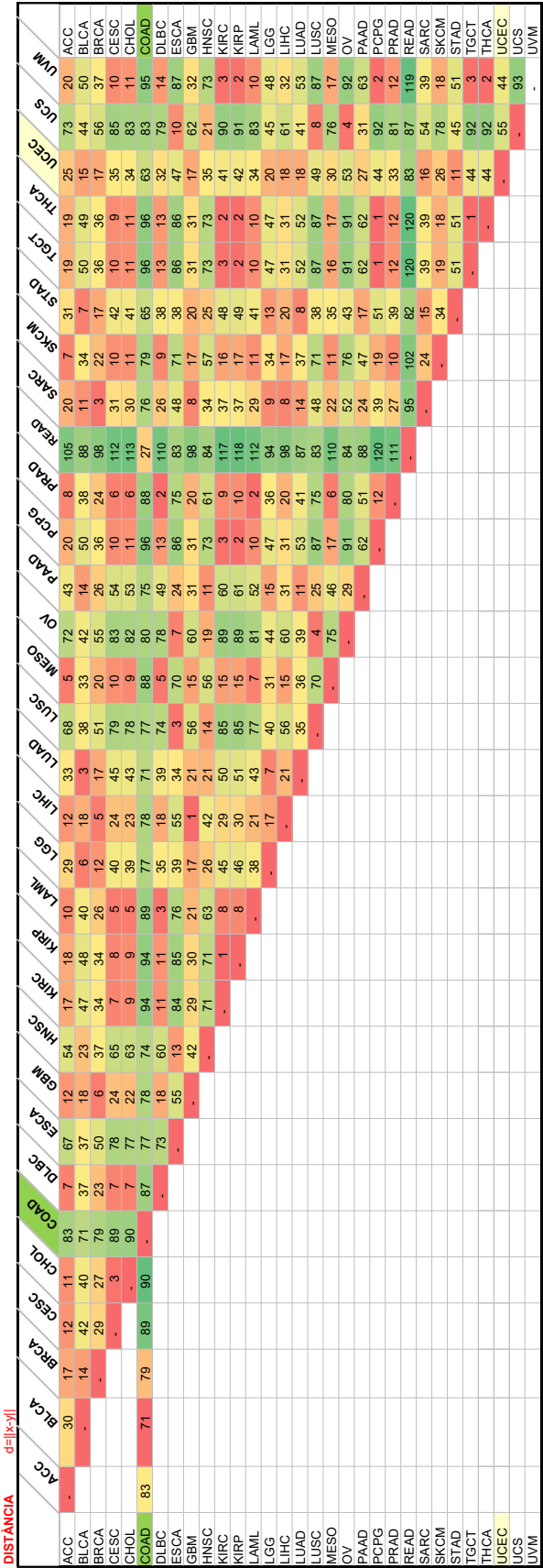
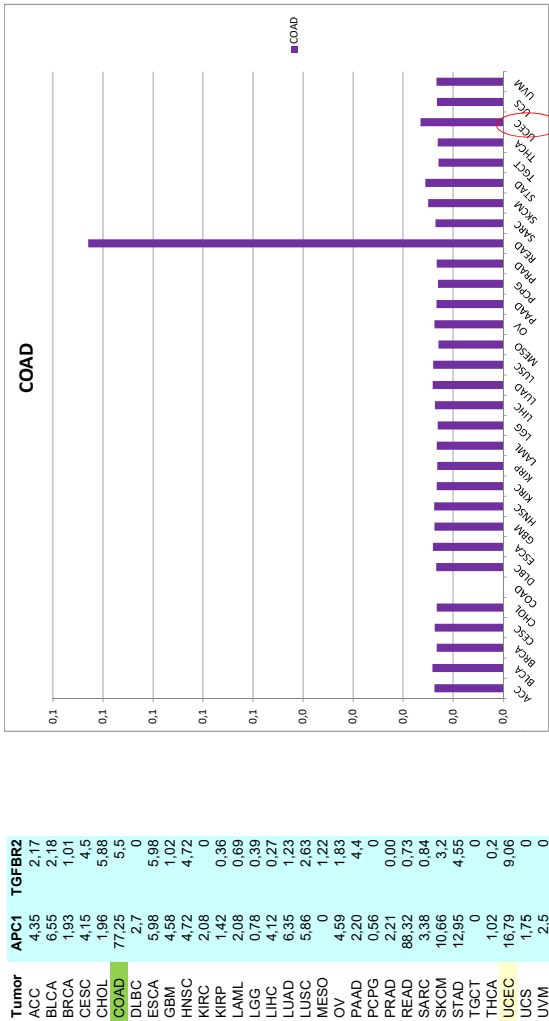


Figura 4.3 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 3 mutacions alhora: Apc1, Tgfb2 i Trp53 (ATP).

Mutacions APC1+TGFB2

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 2 mutacions alhora: Apc1 i Tgfb2 (AT). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

Les dades mostren que, analitzades aquestes 2 mutacions alhora, el tumor més similar al CCR és READ i en segon lloc també UCEC, seguit a molt poca distància d'STAD.



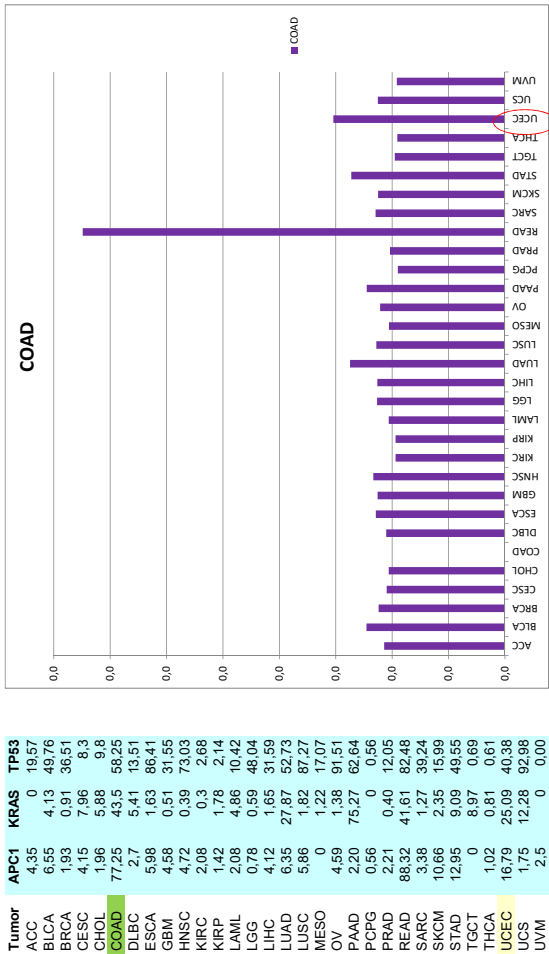
d= x-y																																		
ACC	BLCA	BRCA	CESC	CHOL	COAD	DLBC	ESCA	GBM	HNSC	KIRC	KIRP	LAML	LGG	LIHC	LUAD	LUSC	MESO	OV	PAAD	PCPG	PRAD	READ	SARC	SKCM	STAD	TGCT	THCA	UCEC	UCS	UVM				
-	2	5	3	6	71	4	4	2	3	5	5	5	6	3	1	1	2	4	0	3	4	3	84	2	6	9	5	4	14	3	ACC			
	-	5	3	6	71	4	4	2	3	5	5	5	6	3	1	1	7	2	5	6	5	82	3	4	7	7	6	12	5	5	BLCA			
		-	4	5	75	1	6	3	5	1	1	0	1	2	4	4	2	3	3	2	1	86	1	9	12	2	1	17	1	1	BRCA			
			-	3	73	5	2	4	1	5	5	4	5	4	3	5	3	2	6	5	84	4	7	9	6	5	13	5	5	5	CESC			
				-	75	6	4	6	3	6	6	5	6	6	6	5	5	5	1	6	6	87	5	9	11	6	6	15	6	6	CHOL			
	73	71	75	73	-	75	71	73	73	75	76	75	77	73	71	77	73	75	77	75	12	74	67	64	77	76	61	76	75	COAD				
					-	-	-	7	2	5	1	1	2	1	4	4	3	4	2	0	86	1	9	11	3	2	17	1	0	DLBC				
						-	5	2	7	7	7	7	8	6	5	8	4	8	7	83	6	5	7	8	8	11	7	7	ESCA					
							-	4	3	3	3	4	1	2	2	5	1	4	4	3	84	1	6	9	5	4	15	3	2	GBM				
								-	5	5	5	6	4	4	2	6	3	3	6	5	84	4	6	8	7	6	13	6	5	HNSC				
									-	1	1	1	1	2	4	5	2	3	4	2	0	86	2	9	12	2	1	17	0	0	KIRC			
										-	-	-	-	2	4	4	2	3	4	1	1	97	2	10	12	1	0	18	0	1	KIRP			
											-	-	-	3	6	6	1	4	4	2	1	86	1	9	12	2	1	17	1	1	LAML			
												-	-	-	2	3	4	4	0	1	88	3	10	13	1	0	18	1	2	LGG				
													-	-	-	4	2	5	4	2	84	1	7	10	4	3	15	2	2	LIHC				
														-	-	-	6	2	5	6	4	82	3	5	7	6	5	13	5	4	LUAD			
															-	-	6	2	4	6	4	82	3	5	7	6	5	13	5	4	LUSC			
																-	-	5	4	1	3	88	3	11	13	1	1	19	2	3	MESO			
																	-	-	4	4	3	84	2	6	9	5	4	14	3	3	OV			
																		-	5	4	3	86	4	9	11	5	4	15	4	4	PAAD			
																			-	-	2	88	3	11	13	1	1	19	1	2	PCPG			
																				-	-	86	1	9	12	2	1	17	0	0	PRAD			
																					-	-	85	78	75	88	87	72	87	86	READ			
																						-	-	8	10	3	2	16	2	1	SARC			
																							-	-	-	11	10	8	9	9	SKCM			
																								-	-	14	13	6	12	11	STAD			
																									-	-	-	-	-	2	3	TGCT		
																										-	-	-	-	1	19	1	THCA	
																											-	-	-	-	18	17	UCEC	
																														-	-	1	1	UCS
																																-	-	UVM

Figura 4.4 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 2 mutacions alhora: Apc1 i Tgfb2 (AT).

Mutacions APC1+KRAS+TP53

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 3 mutacions alhora: Apc1, Kras i Trp53 (AKP). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

Les dades mostren que, analitzades aquestes 3 mutacions alhora (Apc1, Kras i Trp53), el tumor més similar al CCR és el de recte (READ) i en segon lloc el càncer d'úter (UCEC), seguit d'STAD.



DISTÀNCIA			d= x-y																														
	ACC	BLCA	BRCA	CESC	CHOL	COAD	DLBC	ESCA	GBM	HNSC	KIRC	KIRP	LAML	LGG	LIHC	LUAD	LUSC	MESO	OV	PAAD	PCPG	PRAD	READ	SARC	SKCM	STAD	TGCT	THCA	UCEC	UCS	UVM		
ACC	-	31	17	14	12	93	8	67	12	53	17	18	11	29	12	43	68	5	72	87	19	8	113	20	8	32	21	19	35	74	20	ACC	
BLCA	-	-	14	42	40	81	36	37	19	24	47	48	40	7	18	24	33	42	72	50	38	96	11	34	8	50	19	50	25	44	50	BLCA	
BRCA	-	-	-	29	27	89	23	50	6	37	34	26	12	5	32	51	20	55	79	36	24	106	3	22	19	37	36	29	58	37	BRCA		
CESC	-	-	-	-	3	95	6	78	24	65	10	9	4	41	24	49	79	12	83	87	12	9	117	32	12	42	9	11	39	85	12	CESC	
CHOL	-	-	-	-	-	97	4	77	23	64	9	9	1	39	22	48	78	9	82	87	11	6	118	30	11	41	10	11	39	83	11	CHOL	
COAD	93	81	89	95	97	-	95	87	89	86	103	103	97	88	88	73	88	97	90	82	105	98	27	87	89	73	102	105	66	89	104	COAD	
DLBC	-	-	-	-	-	-	-	73	19	60	12	12	3	35	19	45	74	6	78	85	14	5	116	26	9	38	14	14	36	80	15	DLBC	
ESCA	-	-	-	-	-	-	-	-	55	13	84	84	76	39	55	43	1	70	5	77	86	74	92	47	71	38	86	86	53	13	86	ESCA	
GBM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41	29	30	22	17	1	35	56	15	60	81	31	20	106	8	17	22	32	31	29	63	32	GBM	
HNSC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70	71	63	25	41	34	14	56	19	76	73	61	94	34	57	26	73	73	43	23	73	HNSC	
KIRC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	9	45	29	57	85	15	89	96	3	9	125	37	16	49	9	2	47	91	3	KIRC	
KIRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	46	30	57	85	15	89	95	3	10	125	37	17	49	7	2	47	91	3	KIRP	
LAML	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38	22	48	77	8	81	88	11	5	118	29	11	41	11	11	39	83	12	LAML	
LGG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	28	40	31	44	76	47	36	103	9	34	15	48	47	30	46	48	LGG	
LIHC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34	40	31	44	76	47	36	103	9	34	15	48	47	30	46	48	LIHC	
LUAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43	45	47	88	59	49	88	30	45	20	56	59	16	43	60	LUAD	
LUSC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43	45	47	88	59	49	88	30	45	20	56	59	16	43	60	LUSC
MESO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	87	17	6	117	22	11	36	18	16	37	77	17	MESO	
OV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79	91	80	93	52	76	43	91	91	58	11	92	OV	
PAAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98	90	95	78	87	68	91	97	57	70	98	PAAD		
PCPG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PCPG	
PRAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	127	39	19	51	9	1	50	93	2	40	82	2	PRAD
READ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	READ	
SARC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SARC	
SKCM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SKCM	
STAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	STAD	
TGCT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	TGCT	
THCA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	THCA	
UCEC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UCEC	
UCS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UCS	
UVM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UVM	

Figura 4.5 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 3 mutacions alhora: Apc1, Kras i Trp53 (AKP).

Mutacions APC1+KRAS

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 2 mutacions alhora: Apc1 i Kras (AK). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

Es pot veure que per aquestes mutacions, com en la resta, destaca la semblança que hi ha entre el CCR (COAD) i READ. Respecte als altres tumors, les semblances i diferències són bastant similars. UCEC és una mica més similar que la resta però poc.

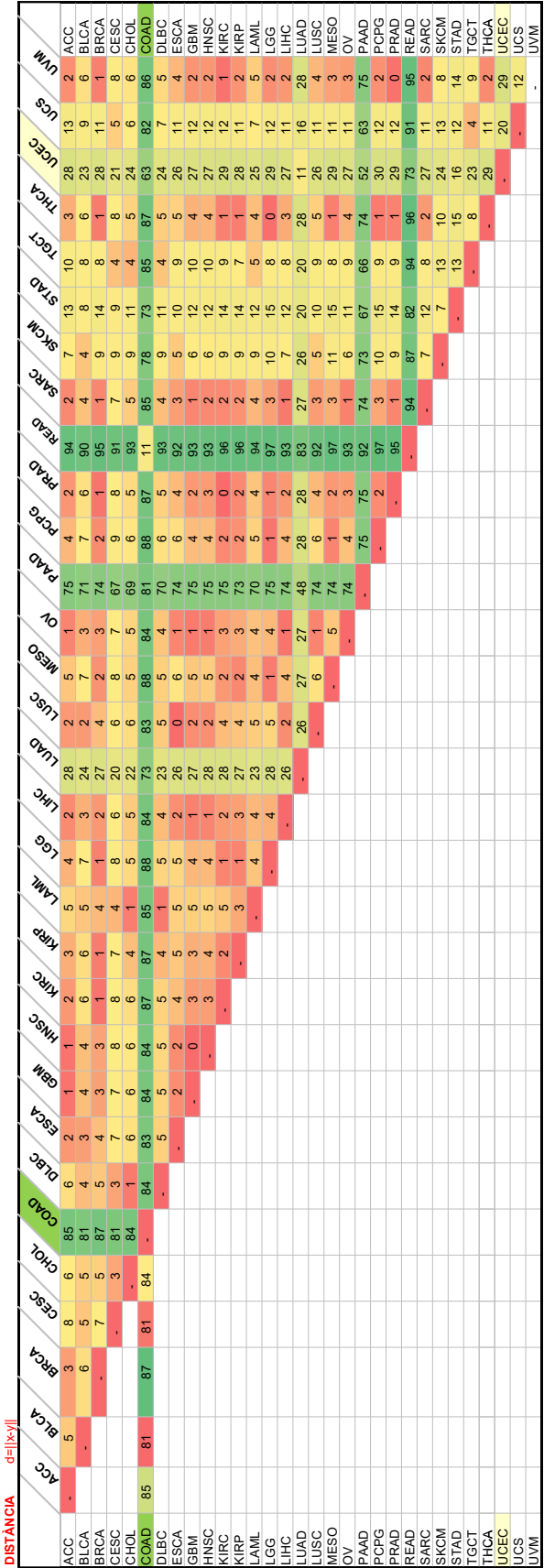
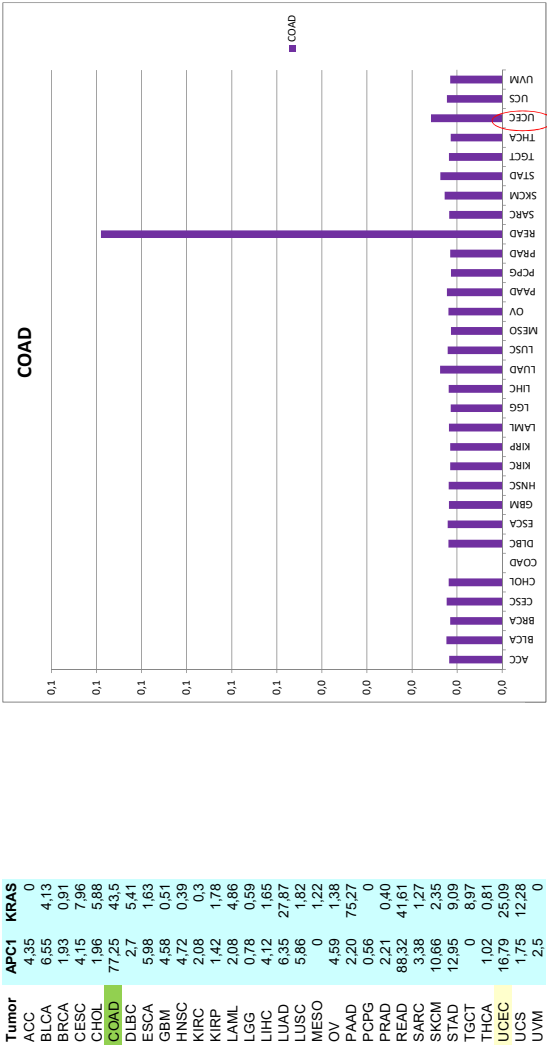
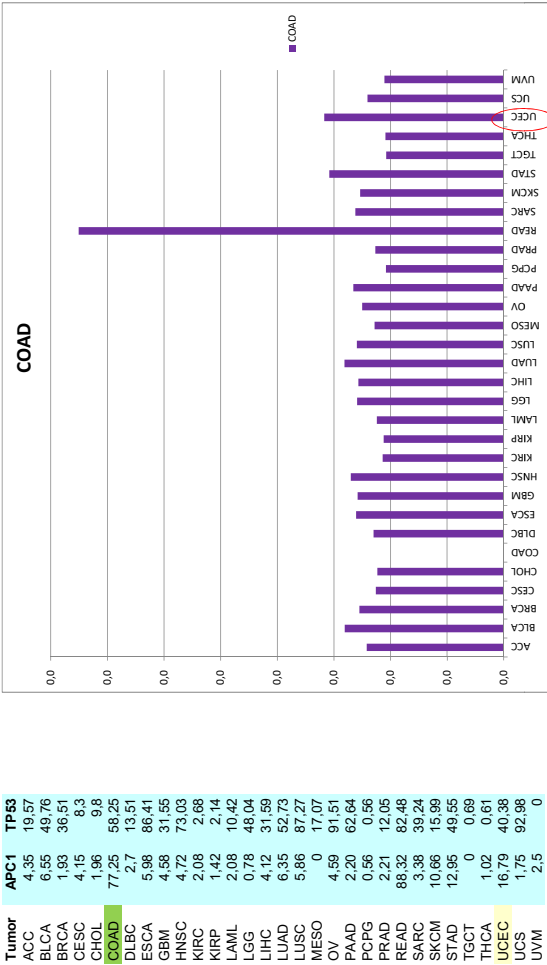


Figura 4.6 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 2 mutacions alhora: Apc1 i Kras (AK).

Mutacions APC1+TP53

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 2 mutacions alhora: Apc1 i Trp53(AP). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

També en aquest cas les dades mostren que els tumors més similars a CCR quan s'estudien en aquestes dues mutacions conjuntament i sense tenir en compte la resta, són READ i en segon lloc UCEC.



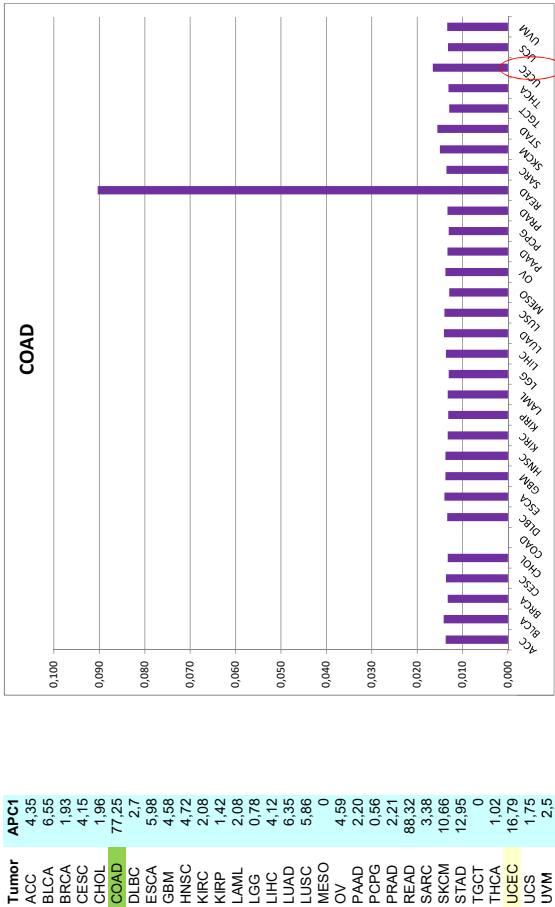
DISTÀNCIA		d= x-y																																		
		ACC	BLCA	BRCA	CESC	CHOL	COAD	DLBC	ESCA	GBM	HNSC	KIRC	KIRP	LAML	LGG	LIHC	LUAD	LUSC	MESO	OV	PAAD	PCPG	PRAD	READ	SARC	SKCM	STAD	TGCT	THCA	UCEC	UCS	UVM				
ACC	-	30	17	11	10	83	6	67	12	53	17	18	9	29	12	33	68	5	72	43	19	8	105	20	7	31	19	19	24	73	20	ACC				
BLCA	-	14	42	40	71	36	37	18	23	18	47	48	40	6	18	3	38	33	42	14	50	38	88	11	34	6	50	49	14	43	50	BLCA				
BRCA	-	-	28	27	78	23	50	6	37	34	34	26	12	5	17	51	20	55	26	36	24	98	3	22	17	36	36	15	56	37	50	BRCA				
CESC	-	-	-	3	89	5	78	23	65	6	7	3	40	23	44	79	10	83	54	9	4	112	31	10	42	9	8	34	85	8	37	CESC				
CHOL	-	-	-	-	90	4	77	22	63	7	8	1	38	22	43	78	8	82	53	9	2	113	29	11	41	9	9	34	83	10	8	CHOL				
COAD	83	71	78	89	90	-	87	77	74	93	94	89	77	78	71	77	88	80	75	96	88	27	76	79	65	96	96	63	83	95	COAD					
DLBC	-	-	-	-	-	-	73	18	60	11	11	3	35	18	39	74	4	78	49	13	2	110	26	8	37	13	13	30	79	14	DLBC					
ESCA	-	-	-	-	-	-	-	55	13	84	84	76	39	55	34	1	70	5	24	86	74	82	47	71	38	86	86	47	8	86	ESCA					
GBM	-	-	-	-	-	-	-	-	41	29	30	21	17	0	21	56	15	60	31	20	98	8	17	20	31	31	15	61	32	32	GBM					
HNSC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70	71	63	25	41	20	14	56	18	11	73	61	84	34	57	25	72	73	35	20	73	HNSC				
KIRC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	8	45	29	50	85	15	89	60	3	9	117	37	16	48	3	2	40	90	3	KIRC				
KIRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	46	30	51	85	15	89	61	2	10	118	37	17	49	2	2	41	91	2	KIRP			
LAML	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38	21	43	77	81	52	10	2	112	29	10	41	10	10	33	83	10	LAML				
LGG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	7	40	31	44	15	47	36	94	9	34	12	47	47	18	45	48	LGG			
LIHC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	56	15	60	31	20	98	8	17	20	31	31	15	61	32	LIHC				
LUAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	36	39	11	52	41	87	14	37	7	52	52	16	41	53	LUAD				
LUSC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70	4	25	87	75	83	48	71	38	87	87	48	7	87	LUSC				
MESO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	46	17	5	110	22	11	35	16	16	29	76	17	MESO				
OV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	91	79	84	52	76	43	91	91	53	3	92	OV				
PAAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	62	51	88	23	47	17	62	27	30	63	63	PAAD				
PCPG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PCPG				
PRAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PRAD				
READ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	READ				
SARC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SARC				
SKCM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SKCM				
STAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	STAD				
TGCT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	TGCT				
THCA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	THCA				
UCEC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UCEC				
UCS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UCS				
UVM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	UVM				

Figura 4.7 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 2 mutacions alhora: Apc1 i Trp53 (AP).

Mutació APC1

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 1 sola mutació: Apc1 (A).

A l'estudiar la mutació APC1 sola, UCEC també és el tumor més semblant a COAD, evidentment sempre després de READ.



DISTÀNCIA $d= x-y $																																	
ACC	BLCA	BRCA	CESC	CHOL	COAD	DLBC	ESCA	GBM	HNSC	KIRC	KIRP	LAML	LGG	LIHC	LUAD	LUSC	MESO	OV	PAAD	PCPG	PRAD	READ	SARC	SKCM	STAD	TGCT	THCA	UCEC	UCS	UVM			
ACC	-	2	0	2	73	2	2	0	2	4	3	2	4	0	2	2	4	0	2	4	6	4	2	84	1	6	9	4	3	12	3	2	ACC
BLCA		-	5	2	5	71	4	1	2	2	4	5	4	6	2	0	1	7	2	4	6	4	2	82	3	4	6	7	6	10	5	4	BLCA
BRCA			-	2	0	75	1	4	3	3	0	1	0	1	2	4	2	3	0	0	1	0	86	1	9	11	2	1	15	0	1	BRCA	
CESC				-	2	73	1	2	0	1	2	3	2	3	0	2	4	0	2	4	2	84	1	7	9	4	3	13	2	2	2	CESC	
CHOL					-	75	1	4	3	3	0	1	0	1	2	4	4	2	3	0	1	0	86	1	9	11	2	1	15	0	1	CHOL	
COAD						-	75	71	73	75	76	73	71	71	77	73	75	77	75	11	74	67	64	77	64	77	76	60	76	75	COAD		
DLBC							-	3	1	2	1	1	2	1	4	3	2	1	2	0	86	1	8	10	3	2	14	1	0	DLBC			
ESCA								-	1	1	4	5	4	5	2	0	6	1	4	5	4	82	3	5	7	6	5	11	4	3	ESCA		
GBM									-	0	3	3	3	4	0	2	1	5	0	2	4	2	84	1	6	8	5	4	12	3	2	GBM	
HNSC										-	3	3	3	4	1	2	1	5	0	3	4	3	84	1	6	8	5	4	12	3	2	HNSC	
KIRC											-	1	1	2	4	4	2	3	0	2	0	86	1	9	11	2	1	15	0	0	KIRC		
KIRP												-	1	3	5	4	1	3	1	1	87	2	9	12	1	0	15	0	1	KIRP			
LAML													-	1	2	4	4	2	3	0	2	0	86	1	9	11	2	1	15	0	0	LAML	
LGG														-	3	6	5	1	4	1	0	1	88	3	10	12	1	0	16	1	2	LGG	
LIHC															-	2	4	0	2	4	2	84	1	7	9	4	3	13	2	2	LIHC		
LUAD																-	0	6	2	4	6	4	82	3	4	7	6	5	10	5	4	LUAD	
LUSC																	-	6	1	4	5	4	82	3	5	7	6	5	11	4	3	LUSC	
MESO																		-	5	2	1	2	88	3	11	13	1	17	2	3	MESO		
OV																			-	2	4	2	84	1	6	8	5	4	12	3	2	OV	
PAAD																				-	2	0	86	1	8	11	2	1	15	0	0	PAAD	
PCPG																					-	2	88	3	10	12	1	0	16	1	2	PCPG	
PRAD																						-	86	3	10	12	1	0	16	1	2	PRAD	
READ																							-	85	78	75	88	87	72	87	86	READ	
SARC																								-	7	10	3	2	13	2	1	SARC	
SKCM																									-	2	11	10	6	9	8	10	SKCM
STAD																										-	13	12	4	11	10	STAD	
TGCT																											-	1	17	2	3	TGCT	
THCA																												-	16	1	1	THCA	
UCEC																													-	15	14	UCEC	
UCS																														-	1	UCS	
UVM																															-	UVM	

Figura 4.9 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 1 sola mutació: Apc1 (A).

Mutació TGFBR2

Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant en aquest cas, 1 sola mutació: Tgfbr2 (T). A la matriu de colors es mostra la distància dels diferents tumors entre si (columna versus fila) i en el gràfic de barres, la representació de l'invers de la distància del CCR respecte a la resta de càncers.

En aquest cas els tumors més semblants a COAD són CHOL (colangiocarcinoma), ESCA (esòfag), HNSC (cap i coll), STAD (estómac) i PAAD (càncer de pàncrees). Per a la mutació Tgfbr2 sola, la semblança entre COAD i UCEC és feble.

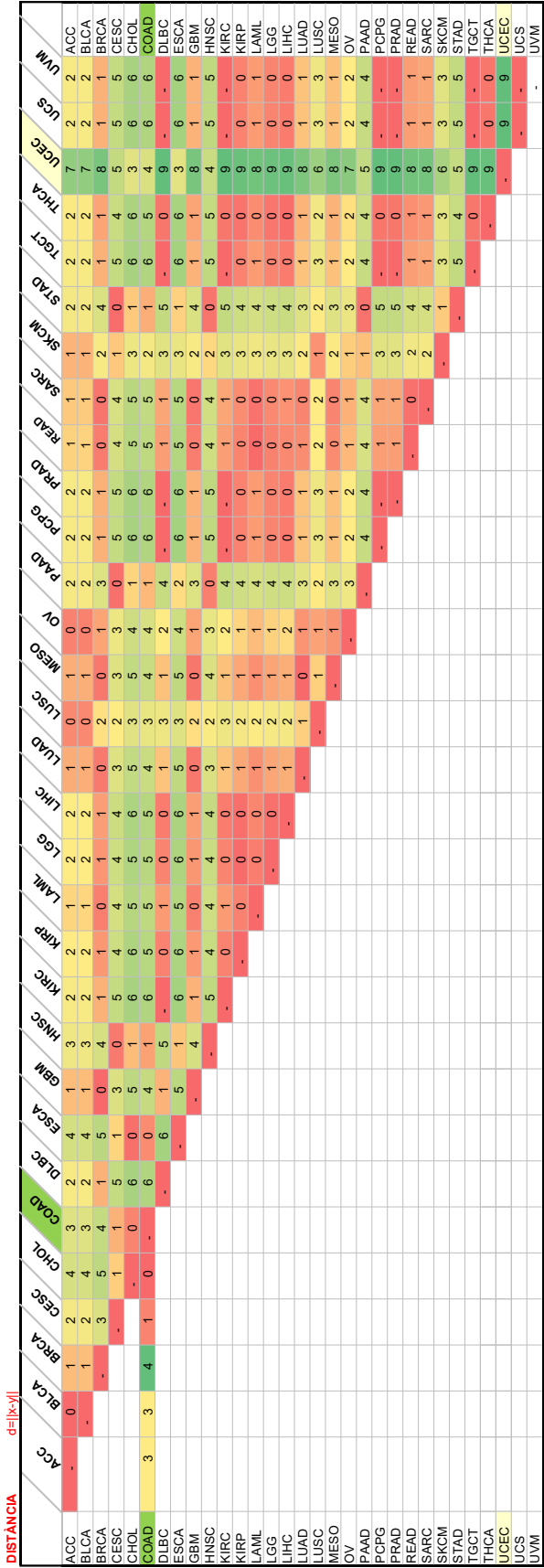
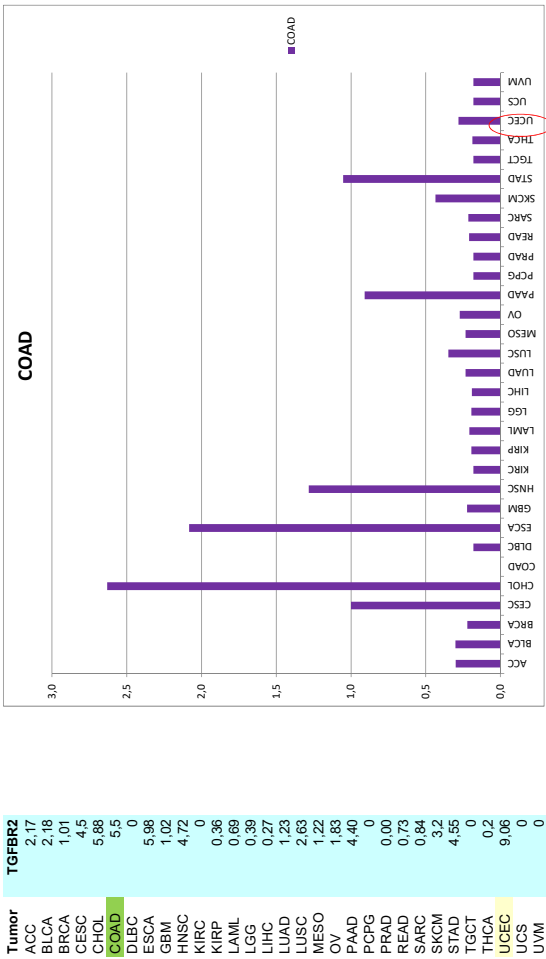


Figura 4.10 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 1 sola mutació: Tgfbr2 (T).

Representació gràfica de la distància entre els 331 tumors estudiats valorant en aquest cas, 1 sola mutació: Trp53 (P).

En aquest cas els tumors més semblants a COAD són PAAD (càncer de pàncrees), LUAD (càncer de pulmó), BLCA (bufeta d'orina), STAD (estómac), LGG (glioma cerebral) i HNSC (tumor de cap i coll). Per a la mutació Trp53 sola, la semblança entre COAD i UCEC és mitjana, essent el 7è tumor més semblant després dels que hem anomenat.



Figura 4.11 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant 1 sola mutació: Trp53 (P).

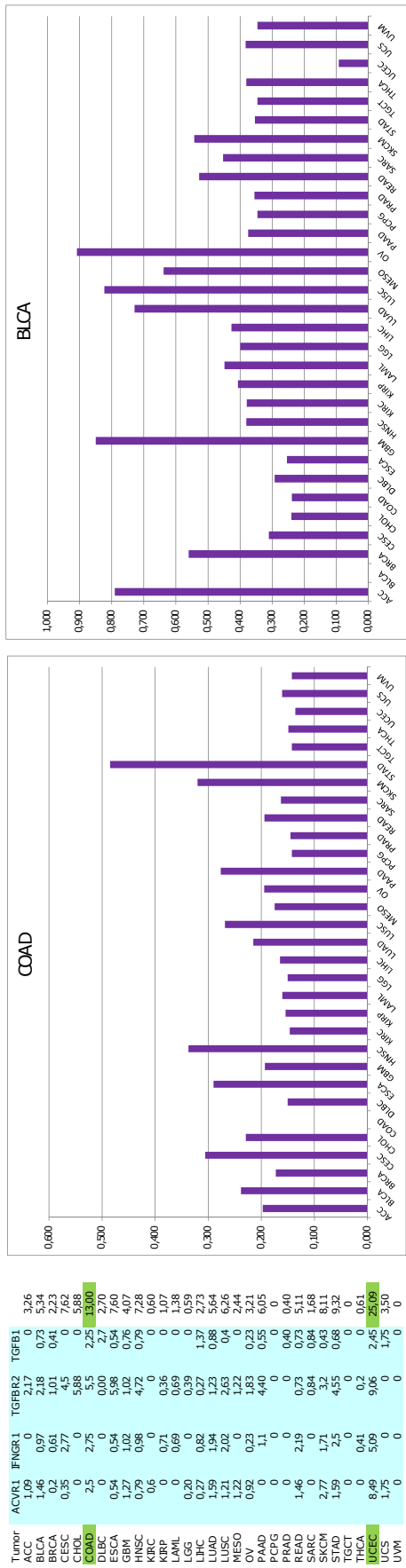
4.2 Estudi matemàtic de les mutacions de l'article de Mariathasan, Turley, Nichels *et al.*

En segon lloc, hem fet el mateix però canviant les mutacions de les vies anteriors per les que s'analitzaven a l'article de Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2], que igual que en el primer estudi, utilitzaven galunisertib + un agent anti-PD-L1 per tractar un càncer metastàtic, en aquest cas de bufeta.

S'ha comparat el càncer d'úter amb el de còlon tenint en compte les mutacions en aquests nous gens i també amb el càncer de bufeta, que era el d'objecte d'estudi a l'article de Mariathasan, Turley, Nichels *et al.*

Destaca que el càncer que té un percentatge més elevat de mutacions en els quatre gens és novament el càncer d'úter.

Els resultats obtinguts es poden observar a la **figura 4.12**.



DISTANCIA		d= x-y																																		
ACC	BLCA	BRCA	CESC	CHOL	COAD	DLBC	ESCA	GBM	HNSC	KIRC	KIRP	LAML	LGG	LHCC	LIHC	LUAD	LUSC	MESO	OV	PAAD	PCPG	PRAD	READ	SARC	SKCM	STAD	TGCT	THCA	UCEC	UCS	UVM					
ACC	-	1.3	1.6	3.7	3.9	5.1	3.6	3.9	1.7	2.9	2.2	2.0	2.0	2.6	2.4	2.1	1.0	0.5	2.8	2.4	2.5	2.7	1.9	2.6	3.6	2.4	2.3	11.6	2.9	2.4	ACC					
BLCA	-	1.8	0.97	2.18	0.73	3.4	3.9	1.2	2.6	2.5	2.2	2.2	2.5	1.4	1.2	1.4	1.2	1.6	1.1	2.7	2.9	2.8	1.9	2.2	1.8	2.8	2.9	2.6	10.8	2.6	2.9	BLCA				
BRCA	0.2	0.61	1.01	0.41	2.23	0.6	1.2	0.8	1.2	0.8	0.8	0.6	1.0	1.0	1.2	1.0	1.2	1.0	1.3	0.9	3.4	1.3	1.2	2.1	0.8	3.6	4.3	1.3	1.0	12.6	2.4	1.3	BRCA			
CESC	0.35	2.77	4.5	0	7.62	0.588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CESC			
CHOL	0	0	0	0	5.88	2.25	13.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CHOL			
DLBC	0.27	2.70	5.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	DLBC			
ESCA	0.54	0.95	0.500	0.27	2.70	0.588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ESCA		
GBM	1.27	1.02	1.02	0.76	4.07	0.79	7.28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GBM		
HNSC	0.79	0.98	1.02	0.79	7.28	0.79	7.28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	HNSC		
KIRC	0.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	KIRC			
KIRP	0	0.71	0.36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	KIRP		
LAML	0.20	0	0.69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LAML		
LGG	0.20	0	0.39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LGG		
LIHC	0.20	0.82	1.27	1.37	2.73	0.588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LIHC		
LUAD	0.20	0.82	1.27	1.37	2.73	0.588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LUAD		
LUSC	1.21	2.02	1.02	0.76	4.07	0.79	7.28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LUSC		
MESO	1.22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	MESO			
OV	0.92	0.23	1.83	0.23	3.21	0.23	3.21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	OV		
PAAD	0	1.1	4.40	0.55	6.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PAAD		
PCPG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PCPG		
PRAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PRAD		
READ	1.46	2.19	0.73	5.11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	READ		
SARC	0.27	0	0.43	0.68	0.932	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SARC		
SKCM	2.77	2.5	3.2	0.43	8.11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SKCM		
STAD	1.59	2.5	4.55	0.68	9.32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	STAD		
TGCT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TGCT		
THCA	0	0.41	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	THCA		
UCEC	8.49	5.09	9.06	2.45	25.09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	UCEC		
UCS	1.75	0	0	1.75	3.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	UCS		
UVM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	UVM		

Mutacions ACBR1+IFNGR1+TGFB2+TGFB1

En el gràfic de l'esquerra es comparen tots els tumors amb el COAD (càncer de còlon). En aquest cas els tumors més semblants a COAD són READ (càncer de recte) i UCEC (càncer d'úter). En canvi, quan les distàncies entre tumors han estat comparades amb el càncer de bufeta (BLCA) en el gràfic de la dreta, els tumors més semblants han resultat ser LGG, STAD, SARC i BRCA. L'UCEC es troba novè respecte a la resta de tumors. Això pot ser explicat perquè BLCA té uns percentatges molt baixos en les mutacions, molt més que UCEC, i per això en aplicar la fórmula matemàtica hi ha molta distància.

Figura 4.12 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant les 4 mutacions alhora: ACBR1+IFNGR1+TGFB2+TGFB1 (AKTP).

4.3 Anàlisi de les entrevistes

Les dues entrevistes que es troben al annexos són plenes d'informació que ens va ajudar de moltes maneres. Analitzant-les podem fer una síntesis de tot allò que ens van aportar.

- a) L'entrevista que vam realitzar el passat 29 de març ens va suposar un gran ajut en la comprensió d'aquesta matèria. Com que el Dr. Cañellas és un dels signants de l'article [1] en el qual ens hem basat primordialment, l'entrevista es va centrar en aquest article i en la informació addicional que ens va aportar per entendre tant aquest estudi com tot el tema de les vies de senyalització cel·lular i les seves mutacions. El Dr. Cañellas va començar amb una descripció histològica del còlon i la importància de les cèl·lules mare en aquest òrgan. A continuació ens va explicar breument la funció i el funcionament d'algunes vies de senyalització com Wnt, EGFR i Tp53 i va introduir també els conceptes d'oncogen i gen supressor. Ens va avisar, però, que no tots els pacients de càncer de còlon tenen aquestes mutacions, però que són les més rellevants estadísticament. Pel que fa a l'explicació de la via TGF β , va concretar més al llarg de l'entrevista sobre els efectes negatius que té en el sistema immunitari. Vam parlar també del concepte de metàstasi i després vam passar a parlar més del seu estudi. Vam preguntar sobre el mètode que havien emprat per aconseguir els ratolins i el sistema d'organoids, únics en el disseny experimental, i ens explicà les dificultats d'aquest mètode, però també els seus beneficis. El Dr. Cañellas ens va aclarir dubtes de nomenclatura i posteriorment ens va donar consell sobre el rumb que podria seguir el nostre treball. Finalment, vam parlar del treball a llarg termini (cal recordar que aquest treball va començar com una iniciativa per ser presentat al certamen *Richi Talent*), i també d'una possible part pràctica amb el seu ajut. L'entrevista va finalitzar amb una explicació del funcionament del sistema immunitari relacionada amb el que, tant el seu equip com nosaltres, tractem i amb una breu visita als seus laboratoris de l'IRB.
- b) La successió d'entrevistes amb el Dr. Plaja per correu electrònic ens van ajudar molt a millorar tant el contingut com la forma del nostre treball.

Començant pel correu de l'1 d'abril, el Dr. Plaja ens va recomanar definir els nostres objectius i revisar detalladament el format dels articles principals del nostre treball. Després ens va respondre algunes preguntes que li havíem fet anteriorment com per exemple, què és una via de senyalització, per què només algunes mutacions específiques provoquen càncer, si hi havia alguna similitud amb els teixits intestinals i uterins a nivell de mutacions, què és el que impedeix a les cèl·lules T atacar els teixits tumorals amb TGF β , si hi havia interaccions entre vies de senyalització, i si hi havia alguna via de senyalització que calgués tenir en compte en l'elaboració d'aquest treball, a part de les emprades en els articles de càncer colorectal i urotelial. Finalment, ens va explicar tot el procés de formació d'un càncer maligne.

El correu del 24 de juny també ens va ajudar molt. Aquest es centrava més en el que portàvem fet de treball. El Dr. Plaja ens va donar consell sobre alguns apartats i característiques del nostre treball a millorar. Ens va aconsellar fer l'inici del treball més senzill i pedagògic per facilitar-ne la lectura. També ens va explicar breument com havia de ser l'estructura d'un article científic i posteriorment va comentar el treball apartat per apartat. Començant per la introducció, ens recomanà que expliquéssim què es el càncer, una via de senyalització i les relacions entre el càncer i aquestes vies. Després ens va recomanar fer un apartat de discussió i desenvolupar l'apartat de conclusions.

Capítol 5

Comprovació dels resultats

5.1 cBioPortal i COSMIC

Després d'estudiar les diferents mutacions de l'estudi amb la base de dades del *National Cancer Institute*¹ [3], teníem clar que el tumor més similar a COAD era el d'úter. Ara bé, ens vam plantejar si els resultats serien els mateixos aplicant la mateixa regla matemàtica però amb els valors de les mutacions de les altres bases de dades mundials de mutacions més importants. En aquesta part del treball mostrem els resultats obtinguts en aplicar la norma amb els registres de casos de pacients de les bases de dades *cBioPortal* [5] i *COSMIC*²[4] per tal de comprovar la validesa dels resultats obtinguts utilitzant la base de dades americana del *National Cancer Institute* [3].

A la **taula 5.1** es pot veure la gran semblança de resultats, amb la utilització de les altres dues bases de dades, cosa que creiem que dóna molta consistència al nostre treball.

Freq.	NIH	cBioPortal	COSMIC
1	READ	READ	INT
2	UCEC	UCEC	BIL
3	LUNG	LUAD	LUNG
4	STAD	STAD	STAD
5	BLCA	PAAD	UCEC
6	PAAD	HNSC	OV
7	HNSC	SKCM	PAAD

Taula 5.1 – Comparació dels resultats dels creuaments de les diferents mutacions amb les 3 bases de dades (NIH, cBioPortal i Cosmic). Es pot veure com en les tres, el tumor més semblant al de còlon és el de recte (o intestinal seguint la nomenclatura de Cosmic) i en dos casos, el següent més freqüent és UCEC. A la **taula 3.1** hi ha explicada la nomenclatura de les abreviatures. **Font:** elaboració pròpia.

A continuació presentem les figures amb els resultats obtinguts en l'estudi matemàtic de les mutacions, utilitzant la base de dades *cBioPortal* (**figura 5.1**) i *Cosmic* (**figura 5.2**):

-
1. Veure explicació de la base de dades a l'apartat de metodologia
 2. Veure explicació de la base de dades a l'apartat de metodologia

Mutació APC1+KRAS+TGFB2+PR53 a COS-MIC

Resultats obtinguts al calcular la distància del càncer de còlon amb la resta de tumors, segons els percentatges de mutacions d'Apc1, Kras, Tgfb β 2 i Tpr53 a la base de dades Cosmic. Aquesta base de dades utilitza una nomenclatura per a classificar els tumors, diferent de la que s'utilitza a la National Cancer Institute, amb la qual cosa els resultats no són tan fàcilment comparables. De totes maneres, com era d'esperar, el tumor més freqüent al de còlon és l'intestinal i en segon lloc el de vies bilials. El d'úter és el cinquè però amb petites diferències respecte la resta.

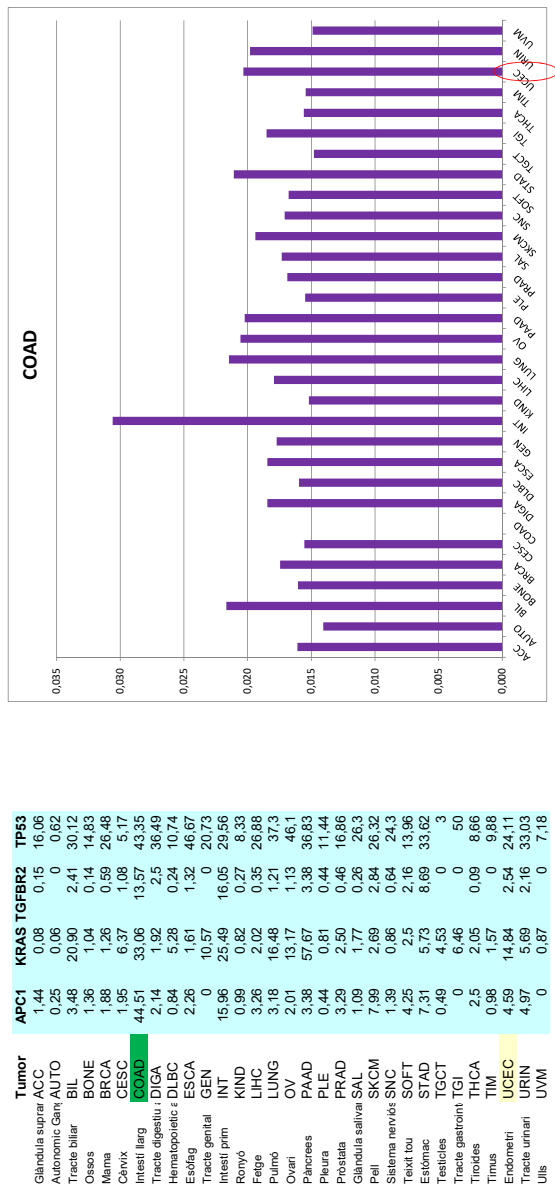
[illegible]

Figura 5.2 – Representació gràfica de la distància entre els 31 tumors estudiats valorant les 4 mutacions *Apc*, *Kras*, *Tgfbr2* i *Trp53* alhora (*AKTP*) en casos de la base de dades *COSMIC* (***COSMIC***).

Capítol 6

Conclusions

6.1 Principals conclusions

Per finalitzar el treball podem concloure que la nostra hipòtesi inicial ha estat comprovada, tant analitzant les mutacions emprades en l'article de Batlle *et al.* [1] com el de Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2]. En ambdós casos hem trobat que el càncer uterí és el més semblant al càncer colorectal prenent com a referència les mutacions estudiades.

Tot i així, ha resultat ser un dels més diferents al comparar-lo amb BCLA segons les mutacions usades en l'estudi de Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2]. Això ens va sorprendre, però en estudiar-ho amb deteniment hem pogut comprovar com aquest fet era produït perquè BCLA és un dels tumors amb un percentatge de mutacions més petit, en canvi UCEC és el que més mutacions presenta en aquests gens, seguit per COAD, amb el qual, per tant, torna a ser el més semblant.

És per això que creiem que si el tractament de galunisertib + un agent anti-PD-L1 ha tingut uns resultats molt remarcables en la curació de càncer colorectal també els podria tenir en un gran percentatge de pacients amb càncer d'úter, especialment en aquelles dones que tenen mutats els gens estudiats.

Cal remarcar que encara faltaria provar aquest experiment en éssers humans, ja que els resultats dels estudis de Batlle *et al.* [1] i Mariathasan, Turley, Nichles *et al.* [2] només han arribat a la fase de proves amb models de ratolins amb càncers humans. Tot i així, els resultats obtinguts obren moltes possibles vies d'investigació. A part de seguir investigant en la línia de la nova hipòtesi i provar experimentalment si realment es produeix una millora del càncer d'úter quan s'aplica el tractament proposat anteriorment, també es podria intentar buscar similituds entre alteracions d'altres vies que afectin tumors diferents als estudiats en aquest article.

També cal tenir en compte que tot i l'èxit del nostre estudi i la confirmació que el càncer uterí és el més semblant al de còlon metastàtic, pot ser que el tractament de la combinació de galunisertib + anti-PD-L1 només pugui curar un percentatge de les afectades pel càncer uterí. La raó és que el nombre de casos en què el càncer uterí s'ha relacionat amb les mutacions estudiades representa un percentatge concret d'entre tots els casos. Això vol dir que hi ha una gran quantitat de casos d'UCEC que no són produïts per alteracions a les vies estudiades i per tant no es veurien reduïts amb el tractament proposat.

És necessari aclarir per què no hem tingut en compte el càncer que ha tingut, amb diferència, la major semblança amb el càncer de còlon, el càncer de recte. La raó és que, tot i tenir noms independents, el càncer de còlon i el de recte es troben en dues àrees molt pròximes i pràcticament es tracta del mateix teixit. Així doncs, podríem considerar aquest resultat com a una raó de credibilitat perquè té lògica que dos teixits quasi idèntics i que en molts casos es consideren el mateix càncer (colorectal) surtin tan semblants.

6.2 Dificultats i limitacions

Al llarg del treball ens han sorgit diverses dificultats a esmentar:

- La primera era l'immens desconeixement que teníem del tema principal, vies de senyalització i càncer, que tal i com ens va dir el Dr. Cañellas "aquest tema que heu triat és molt nou, 10 o 15 anys de vida, jo personalment no el vaig començar a tocar fins a 4t de carrera". Els primers mesos del treball van estar dedicats a l'aprenentatge del tema que volíem tractar. Per sort vam començar més aviat el nostre treball ja que vam participar al certamen Richi Talent.
- La segona és que com a estudiants de batxillerat, no disposem dels recursos per poder posar en pràctica els resultats del treball. En escollir el tema ja érem conscients que, tot i que l'habitual en els treballs de recerca és fer una part pràctica, la nostra hauria de ser molt teòrica.
- Per finalitzar podríem dir que en ser un tema tan recent i per la manca d'estudis publicats fins al moment respecte el què hem estudiat, des del principi ens qüestionàvem molt els resultats que anàvem obtenint. Ara bé, poder-los comprovar amb dues bases de dades més i que els resultats siguin molt coincidents, ens ha aportat seguretat i confiança en el mètode i en els resultats.

6.3 Continuació del treball

Pel que fa a la continuació del treball, s'han contemplat diverses opcions. Com que ja sabem manipular dades amb el mètode que hem desenvolupat, es podrien fer més comparacions amb altres tipus de càncers per trobar altres similituds. També es podria determinar, segons les mutacions i les vies de senyalització que un pacient tingui alterades, el percentatge d'efectivitat d'un cert tractament, per exemple.

Tot i així, totes aquestes idees requereixen la investigació en humans. És per això que els autors ens hem posat en contacte amb la *Richi Foundation* per aconseguir el contacte d'una investigadora del *Koch Institute* (Boston) on vam assistir a una xerrada el passat estiu com a participants del *Richi Innovation Camp*. Una de les moltes coses que es van comentar aleshores va ser que el grup d'investigació de la conferenciant es dedicava a provar fàrmacs i combinacions de fàrmacs en teixits de càncers humans i va sorgir l'exemple d'un estudiant que havia fet una proposta feia anys i que ja estava en les últimes etapes de l'assaig clínic perquè havia resultat ser eficaç.

Un cop obtingut el contacte, ens hem plantejat seriosament fer una proposta amb tot el que implica: traduir tot el treball a l'anglès, preparar un recapte de fons per cobrir els costos del procediment, buscar fons en el nostre entorn... I també hem considerat el temps que trigàriem a rebre una resposta, es corroborés o no la hipòtesi que plantegéssim.

Per la manca de temps hem decidit ajornar aquesta continuació del projecte, però tenim molt present aquesta possibilitat.

Capítol 7

Agraïments

Podem presentar aquest treball tal i com el teniu a les mans gràcies al suport i als consells de moltes persones que ens han aportat el seu coneixement, la seva experiència, els seus recursos o directament el seu temps i dedicació. Aquest és un breu escrit fet perquè quedi constància de les seves aportacions i també per donar-los les gràcies.

En primer lloc, hem d'agrair als membres col·laboradors del certamen *Richi Talent* i de la Universitat d'Edimburg que ens suggerissin la idea general i diverses fonts d'informació per realitzar la nostra tasca de recerca. També cal agrair al professor del CIC Josep Palau la seva tutorització durant el certamen. Agraïm la participació de la nostra companya de classe Maria Gasull, que va participar al *Richi Talent* amb nosaltres i va treballar activament en les primeres fases del treball.

Als doctors Adrià Cañellas i Alberto Plaja els agraïm l'ajut que ens van proporcionar per entendre la major part dels conceptes de les vies de senyalització i el càncer, per aconsellar-nos sobre algunes parts del nostre treball i per fer nombroses aportacions.

Agraïm a l'Abel Vázquez el seu ajut amb el programa Excel, utilitzat per l'elaboració de les gràfiques, i a l'Orestes Mas, el tiet de la Mariona Vázquez, que ens ha ajudat amb el programa de maquetació \LaTeX , utilitzat per la presentació final d'aquest treball.

Per últim, agraïm a les nostres famílies el seu suport incondicional al llarg del treball.

Bibliografia

- [1] BATLLE, Eduard et al. «TGF β drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis». A: *Nature* 554 (febr. de 2018), pàg. 538 - 543. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/nature25492>.
- [2] MARIATHASAN, Sanjeev; TURLEY, Shannon J.; NICKLES, Dorothee et al. «TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells». A: *Nature* 554 (febr. de 2018), pàg. 544. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/nature25501>.
- [3] NCI. 2018. URL: <https://portal.gdc.cancer.gov/> (cons. 24-09-2018).
- [4] COSMIC. 2018. URL: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> (cons. 24-09-2018).
- [5] CBIOPORTAL. 2018. URL: <http://www.cbioportal.org/> (cons. 24-09-2018).
- [6] RAVI, Rajani et al. «Bifunctional immune checkpoint-targeted antibody-ligand traps that simultaneously disable TGF β enhance the efficacy of cancer immunotherapy». A: *Nature Communications* 9.1 (2018), pàg. 741. ISSN: 2041-1723. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02696-6>.
- [7] CANCERQUEST. *Genes del Càncer*. 2016. URL: <https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/genes-de-cancer> (cons. 24-09-2018).
- [8] INCUSA. *Instituto Nacional del Càncer de los Institutos de Salud de E.E.U.U.* 2018. URL: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/via-de-senalizacion> (cons. 30-06-2018).
- [9] VALDESPINO-GÓMEZ, VM; VALDESPINO-CASTILLO, PM i VALDESPINO-CASTILLO, VE. «Interacción de las vías de señalización intracelulares participantes en la proliferación celular: potencial blanco de intervencionismo terapéutico». A: *Cirugía y Cirujanos* 83.2 (2015), pàg. 165 - 174. DOI: 10.1016/j.circir.2015.04.015.
- [10] CICANCER. *Centro de Investigación Integral del Càncer*. 2018. URL: <http://www.cicancer.org/es/el-cncer-como-resultado-de-alteraciones-de-senalizacion-celular> (cons. 01-07-2018).
- [11] ZHAN, Tianzuo; RINDTORFF, Niklas i BOUTROS, Michael. «Wnt signaling in cancer». A: *Oncogene* 36 (set. de 2016). DOI: 10.1038/onc.2016.304.
- [12] MANTILLA, C et al. «Mecanismos de señalización por β -catenina y su papel en la carcinogénesis». A: *Revista CES MEDICINA* Volume 29.1 (2015), pàg. 109 - 128. ISSN: 0120-8705.
- [13] GOLD, LI. «The role for transforming growth factor-beta (TGF-beta) in human cancer». A: *Crit Rev Oncog* 10 (abr. de 1999), pàg. 303 - 60. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10654929>.
- [14] ROCKLAND. 2018. URL: <https://rockland-inc.com/p53-pathway.aspx> (cons. 10-04-2018).
- [15] UNINET. 2018. URL: <https://www.uninet.edu/conganat/conferencias/C016/> (cons. 10-04-2018).
- [16] MATA-ESPINOSA, DA i HERNÁNDEZ-PANDO, R. «Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos». A: *Revista de Investigación Clínica* 60.5 (2008), pàg. 421 - 431.

- [17] VALLE MENDIOLA, A i SOTO CRUZ, I. «Vía JAK-STAT: una visión general». A: *Revista Especializada en Ciencias de la Salud* 8.1-2 (2005), pàg. 14 - 25.
- [18] JOHNSON, Howard M. et al. «IFN signaling: how a non-canonical model led to the development of IFN mimetics». A: *Frontiers in Immunology* 4 (25 de jul. de 2013). DOI: 10.3389/fimmu.2013.00202.
- [19] MAJOROS, A et al. «Canonical and Non-Canonical Aspects of JAK-STAT Signaling: Lessons from Interferons for Cytokine Responses». A: *Frontiers in Immunology* 8.29 (26 de gen. de 2017). DOI: 10.3389/fimmu.2017.00029.
- [20] ONCLIVE. URL: <https://www.onclive.com/web-exclusives/the-role-of-anti-pd-l1-immunotherapy-in-cancer> (cons. 29-01-2014).
- [21] VISUALSONLINE. 2018. URL: <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=10876> (cons. 31-08-2018).
- [22] GENERALITAT DE CATALUNYA, Departament de Salut. *Registre del Càncer de Catalunya. Pla Director d'Oncologia de Catalunya*. 2016. URL: <http://cancer.gencat.cat/web/es/professionals/estadistiques/20170602-Mono16.pdf> (cons. 30-09-2018).